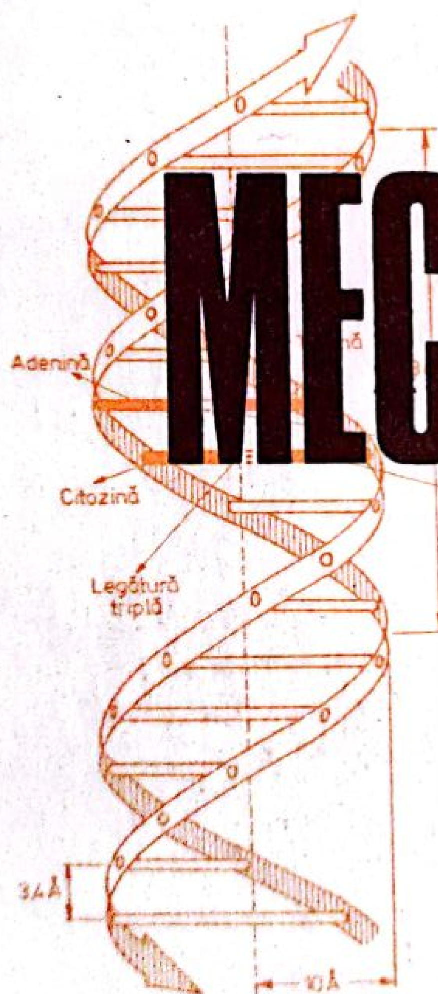


SINTEZE LYCEUM

TEOFIL CRĂCIUN
MINODORA PĂTRAȘCU



MECANISMELE EREDITĂȚII

EDITURA ALBATROS

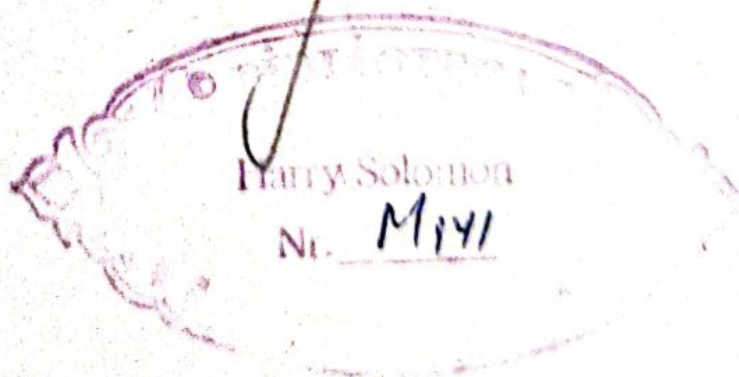




SINTEZE LYCEUM

Prof. univ. dr. doc. TEOFIL CRĂCIUN
Dr. biolog MINODORA PĂTRAȘCU

MECANISMELE EREDITĂȚII





EDITURA ALBATROS

CUVÎNT ÎNAINTE

Genetica — știința eredității, variabilității și reproducerii organismelor — este privită cu interes de marele public, de elevi și studenți, de cercetătorii științifici, de economiști, de medici etc.

Interesul și chiar admirația sînt determinate de descoperirile remarcabile cu privire la cunoașterea substanței ereditare, a mecanismului de transmitere a fenomenelor genetice, precum și de succesele obținute în elaborarea unor metode de modelare experimentală a noi organisme.

Reprezentînd o sinteză unitară și creatoare a principalelor descoperiri ale citologiei, fizicii, chimiei, matematicii și ciberneticii, genetica a pășit pe calea unor descoperiri uimitoare, care o situează printre cele mai dinamice și promițătoare laturi ale științei contemporane. Multitudinea descoperirilor genetice au modernizat știința despre viață și au impus-o, prefigurîndu-i un nou viitor.

Se poate afirma, fără exagerare, că prin realizările ei, genetica a devenit o componentă esențială a revoluției tehnico-științifice de azi și de mîine. Contribuția pe care o poate aduce cercetarea biologică la progresul societății este subliniată și în Programul Partidului Comunist Român. Astfel, Programul partidului precizează că cercetarea biologică, alături de obiectivul cunoașterii secretelor vieții, ale naturii, va trebui să folosească rezultatele cunoașterii în vederea transformării naturii în

folosul omului. În acest sens se relevă necesitatea creării unor noi soiuri și rase de animale, mai productive și de calitate superioară.

În ultimele două, trei decenii a avut loc o revoluție în cunoștințele genetice care s-au îmbogățit substanțial prin crearea premiselor de a studia ereditatea, variabilitatea și reproducerea la nivel molecular. Abordarea eredității la nivel molecular a fost posibilă în urma descoperirii rolului și structurii acizilor nucleici (ADN și ARN), a mecanismelor transmiterii informației genetice, a ribozomilor și rolului acestora în sinteza proteinelor, a descifrării codului genetic și a realizării biosintezei artificiale a ARN și ADN, a izolării genei și sintezei artificiale a genei etc.

Obținerea acestor succese în descifrarea mecanismelor intime ale eredității a extins substanțial sfera de cunoaștere a fenomenelor variabilității și evoluției, ale sexualității și reproducerii, ale combinării și recombinării materialului genetic etc.

Pe lîngă contribuția teoretică care a permis explicarea fenomenelor de reproducere, de ereditate și de variabilitate, cercetările de genetică au contribuit la elucidarea cauzelor unor boli sau predispoziții ereditare. Prin explicarea diferențelor ereditare ce există între indivizi, genetica, ca urmare a dezvoltării analizei genetice, poate aduce reale servicii omenirii. Astfel, este posibilă aplicarea unor măsuri, fie pentru înlăturarea manifestării sau inhibarea înmulțirii unor gene dăunătoare și letale, fie chiar pentru substituirea genelor anormale.

Avantaje considerabile pentru omenire reprezintă transplantarea de organe. Descoperirea și studiul efectelor diverselor variante ale genei compatibilității, punerea la punct a unor tehnici rapide de identificare a acestora la organismul primitor și la organismul donator vor asigura reușita grefelor de organe și ca urmare, supraviețuirea indivizilor recipienți.

Efecte pozitive esențiale asupra progresului tehnologiilor agricole și a creșterii producției vegetale și animale îl au noile soiuri de plante și noile rase de animale, cu potențial productiv și calitativ ridicat și mai adaptate condițiilor mediului de creștere. Este un adevăr recunoscut că volumul

și valoarea producției agricole sînt controlate tocmai de materialul biologic utilizat, de genotipul sau baza ereditară a soiului sau rasei. Cînd genotipul este superior, investițiile în tehnologie, în pregătirea substratului, în alimentația animalelor etc., devin eficiente economic; cînd genotipul este inferior orice investiție în tehnologie are eficiență economică limitată.

Or, în ultimii 20 de ani, cultura plantelor și creșterea animalelor au beneficiat din plin de cercetările de genetică, care au influențat în mod spectaculos activitatea de ameliorare a plantelor și animalelor, în special pe baza aplicării metodelor consangvinizării și hibridării controlate. Astfel, trebuie menționate realizările privind crearea soiurilor sau hibrizilor de porumb, sorg, ceapă, sfeclă de zahăr, măr, piersic, grîu, cartof etc., precum și a raselor sau hibrizilor de găini, curci, porci, taurine, viermi de mătase etc.

Preocupările geneticștilor de a descoperi și perfecționa noi metodologii de acționare asupra substanței ereditare s-au concretizat pe de-o parte printr-o serie de descoperiri care nu numai că vor egala într-un timp scurt marile realizări obținute pînă în prezent de ameliorare, ci va determina o revoluționare a însăși concepției privind activitatea de creare a noi genotipuri vegetale și animale. Dintre aceste descoperiri amintim cele privitoare la haploidie, cultura de țesuturi și stocarea embrionilor, producerea și fuziunea protoplaștilor, manipularea materialului genetic la nivel molecular etc.

Volumul „Mecanismele eredității" relevă descoperirile privind fenomenul genetic la nivel molecular, celular și organismal și subliniază potențialul uriaș, dar încă puțin explorat și folosit, al geneticii de a deschide noi orizonturi de cunoaștere a substanței ereditare și de a elabora căile de utilizare ale acestora în folosul omului.

Problemele geneticii, în lucrarea de față, sînt structurate în patru părți distincte: „Reproducerea și variația genetică", „Transmiterea și distribuția genelor la descendenți", „Schimbările în structura și numărul cromozomilor și genelor" și „Crearea unor forme noi de organisme prin schimbarea controlată a eredității („Ingineria genetică"). În scopul materializării conceptului de practică, sînt date

„Indicații practice" pentru principalele probleme dezbătute. Prezența acestor capitole în care teoria deschide posibilitatea aplicațiilor practice, lărgește aria interesului și contribuie la formarea unor deprinderi utile la elevi, studenți și alți cititori pasionați de problemele geneticii.

Prin tematică, mod de abordare și prezentare a mecanismelor esențiale care controlează fenomenele de ereditate, variabilitate și reproducere, lucrarea este o sursă de documentare și de aprofundare a cunoștințelor pentru elevii ce studiază probleme de biologie și cu deosebire pentru elevii din clasele speciale de biologie, agricole, sanitare, contribuind la mai buna înțelegere a unor capitole din programa de liceu cum sînt cele privind „materia vie", „evoluția și explicarea procesului evoluției speciilor", „transformarea organismelor", „codul genetic", „relațiile organismului cu mediul", „selecția și mecanismele ei", „originea omului" etc.

„Mecanismele eredității" va putea fi utilizată cu succes și de candidații la examenul de admitere în facultățile de biologie, agronomie, horticultură, medicină, zootehnie, precum și de către studenții care audiază cursurile de genetică. În același timp, problematica abordată va interesa specialiștii din diferite domenii ale biologiei, precum și pe acei care sînt preocupați de cunoașterea fascinantelor mecanisme și legi guvernante ale fenomenului eredității ce conferă „biosului" (vieții) continuitate și progres.

Autorii exprimă sincere mulțumiri referenților științifici prof. univ. dr. doc. șt. Corneliu Zolyneak și prof. univ. dr. Petre Diaconu pentru sprijinul colegial acordat.

15 septembrie 1977

Autorii

REPRODUCEREA ȘI VARIAȚIA GENETICĂ

CELULA

STRUCTURI ȘI FUNCȚII

Celula este unitatea de organizare a materiei vii și de construcție a oricărui organism viu; indiferent de modul de reproducere a organismelor, continuitatea viului se asigură prin intermediul celulei.

Cercetările efectuate în ultimele decenii ale secolului nostru au elucidat multe aspecte legate de structura și, mai ales, de funcțiile celulei. În noua concepție, celula este privită ca o unitate morfofuncțională și genetică fundamentală a materiei vii.

Descoperirea celulei a fost realizată de *Robert Hooke*, în anul 1665, care a studiat la microscop secțiuni din tulpina de plută. După anul 1661, *Marcello Malpighi* constată că atît organismele animale cît și cele vegetale sînt alcătuite din celule. Ulterior, botanistul *M. J. Schleiden* (1838) și zoologul *T. Schwann* (1839) au fundamentat o teorie unitară celulară, recunoscînd celula ca fiind unitatea structurală a materiei vii, al doilea sugerînd chiar unele dintre funcțiile metabolice ale celulei. Mai tîrziu *C. Nägeli* a stabilit rolul procesului de diviziune în înmulțirea celulei, iar *R. L. C. Virchow* elaborează teoria celulară în patologie potrivit căreia celula nu poate proveni decît din celule preexistente (*omnis cellula e cellula*). Nu există o ruptură între o generație și cea următoare, ci o persistență a unui element, a unei celule care se dezvoltă progresiv formînd un organism.

Cercetări actuale realizate cu tehnici ultraperfecţionate: microscopie electronică, autohistoradiografiere, analiza chimică a ultracentrifugatelor diferenţiale etc., demonstrează pe deplin unitatea planului de organizare celulară, unitatea compoziţiei chimice şi uniformitatea structurilor subcelulare la plante, animale şi protiste (microorganisme cu caractere colective vegetale şi animale).

Celula reprezintă o masă restrînsă de substanţă vie, *protoplasma*, care în mod obişnuit conţine *citoplasmă* şi *nucleu* sau material nuclear. La animale, celula este delimitată de mediul ambiant prin *membrana plasmatică*; la plante celula prezintă în plus, la exterior, un *perete celular* format din celuloză sau chitină. Celula poate avea forme, dimensiuni şi mărimi variate şi poate îndeplini funcţii fundamentale şi speciale. În ceea ce priveşte numărul lor, organismele pot fi uni sau pluricelulare (mii de miliarde de celule). De fapt ceea ce determină forma şi proprietăţile unui organism este numărul celulelor, diversitatea tipurilor, dispoziţia lor.

Forma celulelor poate fi sferică, cilindrică, alungită, prismatică, stelată ş.a. Dimensiunile celulei variază în funcţie de specie, de ţesut, de cantitatea de informaţie ereditară; la plante, de exemplu, variază între 0,2—2,5 μ (microni, la bacterii şi unele alge) pînă la 50 cm (la urzica chinezească), iar la animale, de la circa 4μ (unele eritrocite) pînă la 150 cm (unele celule nervoase măsurate cu prelungirile lor).

Mărimea variază şi ea între limite largi; la animale masa unor celule este de 10^{-9} (spermatozoidul omului) şi $10^{3}-10^{2}$ (oul de struţ).

Între forma celulei şi funcţiile pe care le îndeplineşte există o strînsă interdependenţă. Unele celule au funcţii deosebit de specializate, de exemplu capacitatea de contracţie la muşchi, de fotosinteză la plantele verzi ş.a.

Celula prezintă un sistem structural de bază unitar. Ea este sediul proceselor vitale fundamentale: nutriţia, respiraţia, creşterea şi reproducerea.

Trăsăturile structurale principale şi localizarea corespunzătoare a funcţiilor au un caracter universal

pentru celulele plantelor şi animalelor. Astfel, membrana celulară este o structură specializată, care limitează selectiv, cantitativ şi calitativ, schimburile dintre mediul intra şi extracelular, menţinînd constant compoziţia mediului intern (fig. 1).

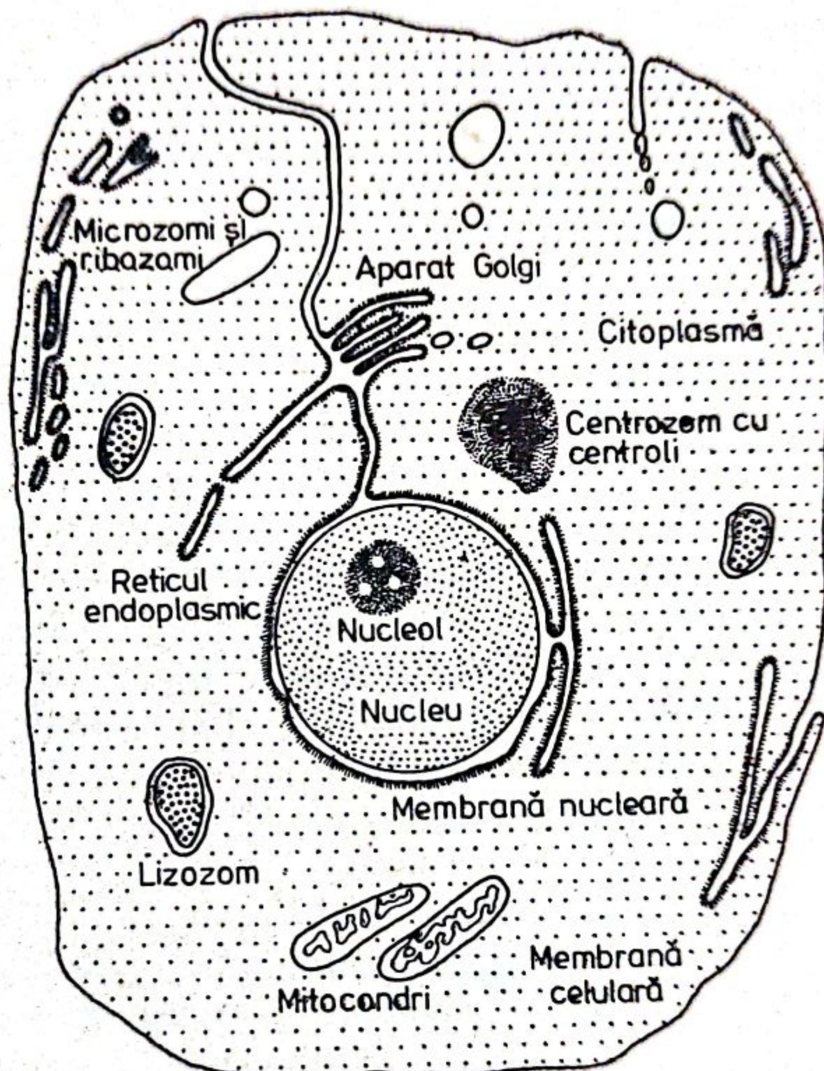


Fig. 1. Structura microscopică şi submicroscopică a unei celule animale. Celula vegetală este similară cu excepţia că cele autotrofe conţin plastide şi nu posedă centrozomi cu centrioli.

În citoplasmă sînt localizate majoritatea funcţiilor celulei; ea este heterogenă, cuprinzînd o masă hialină fundamentală (matricea sau hialoplasma) şi un sistem de structuri, membrane, filamente, granule care reprezintă particule funcţionale sau organite: *mitocondrii*, *lizozomi*, *aparat Golgi* (dictiozomi), *ribozomi* („granulele

Palade" — după numele savantului american de origine română *G. Palade*, care le-a descoperit), *reticul endoplasmatic* și *ergastoplasmă* (reticul endoplasmic cu ribozomi atașați). În citoplasma celulelor animale și a unor plante inferioare se găsesc așa-numiții *centrioli*, cu rol de determinare a polilor de diviziune, iar sub forma de granule bazale ei determină formarea structurilor fibrilare motile: cili și flageli (de la suprafața unor celule). Alte structuri specializate, caracteristice plantelor, sînt *plastidele (cloroplastele)*.

NUCLEUL este o structură indispensabilă, practic omniprezentă, de cea mai mare importanță pentru viața celulei; el este delimitat la exterior de membrana nucleară, care cuprinde nucleoplasma și unele structuri refringente: nucleolii și cromatina din care sînt formați cromozomii. Substanța cromatică formată în principal din ADN, proteine histonice și nehistonice, intră în alcătuirea cromozomilor, puternic despiralizați în interfază cînd îndeplinesc funcții majore: sinteza replicativă proprie (autoduplicarea sau așa-numita funcție *autocatalitică*) în vederea distribuirii lor în diviziune și controlul activității de sinteză al celulei (așa-numita funcție *heterocatalitică*). Celulele fără nucleu au capacitate limitată de creștere și nu se divid.

Funcțiile celulei ca: biosinteza, mișcarea, generarea potențialului electric, autoreproducerea etc., se realizează prin consum de energie rezultată din diferite reacții de oxido-reducere a substanțelor organice. Oxidarea biologică, desfășurată la nivelul citoplasmei, are loc la temperaturi mai scăzute, treptat, fiecare etapă fiind guvernată de enzime și în prezența unor substanțe acceptoare de atomi de H și O (*T. Crăciun, V. Crăciun*, 1976).

PROTOPLASTUL este ansamblul conținutului celular situat (la plante) în interiorul peretelui celular pecto-celulozic; acest termen se aplică și celulelor fără perete celular (la animale). Trebuie subliniat că noțiunea de protoplast indică o unitate protoplasmică uninucleată vie. La *eucariote* (organisme vegetale și animale, cu nucleu tipic — *eucarion*, cu membrane

nucleare, cromozomi și diviziuni nucleare mitotice și meiotice) un protoplast constă din: membrană plasmatică ce include citoplasma și nucleul, iar la *procariote* (organisme cum sînt virușii, bacteriile și algele verzi-albastre la care materialul genetic este reprezentat de un *nucleoid* echivalent nucleului, dar care nu este învelit de membrana nucleară, nu posedă cromozomi și nu se divide prin mitoză și meioză) un protoplast constă din: membrană plasmatică, citoplasmă și nucleoid.

Pentru izolarea protoplaștilor celulelor vegetale, încă de la începutul acestui secol, au fost utilizate *procedee mecanice*. Acest sistem de izolare se poate aplica numai la țesuturile la care are loc plasmoliza întregului conținut celular. Cercetările moderne de genetică au dus la descoperirea unei noi metode de izolare a protoplaștilor — *enzimatică* (bazată pe acțiunea conjugată a enzimelor pectinaza și celulaza asupra peretelui celular).

Protoplaștii izolați fiind unități vii prezintă o deosebită importanță teoretică și practică. Aceștia pot regenera pe anumite medii organisme întregi sau prin utilizarea unui singur protoplast se pot obține populații celulare omogene cu o structură genetică identică. De asemenea, protoplaștii pot fi utilizați pentru transfer de material genetic exogen și în hibridări somatice prin fuziunea lor. (*J. Rainert, Y. P. Bajaj*, 1977)

DIVIZIUNEA CELULARĂ ȘI CONTINUITATEA GENETICĂ

Proprietățile fundamentale de creștere, de dezvoltare și de reproducere ale organismelor se realizează prin procesul de diviziune celulară. Componentele celulei asigură în cursul diviziunii transmiterea ereditară a caracteristicilor de la o celulă la alta, de la un individ la altul și de la o generație la alta.

Diviziunea celulară este directă (*amitoza*) și diviziune indirectă (*mitoza*).

AMITOZA (diviziune nucleară directă) constă într-un mecanism de separare a nucleului în două părți aproximativ egale printr-o constricție mediană (sau fragmentare nucleară). În preajma sau în timpul amitozei nu au loc transformări în interiorul nucleului, ca urmare în timpul ei nu apar cromozomi și nici firele fusului de diviziune. Amitoza este caracteristică organismelor inferioare cum sînt ciliatele, unele protiste și unele țesuturi animale specializate. Celulele rezultate din diviziuni amitotice posedă cîte un nucleu normal care le conferă viabilitate și capacitatea de a se diferenția.

La organismele evoluate, pentru realizarea autoreproducerii integrale a celulei, există un mecanism specializat, cu valabilitate universală la orice ființă vie. Astfel, nucleului îi revine în cea mai mare măsură rolul de a asigura transmiterea caracteristicilor ereditare, fapt ce se realizează în cursul diviziunii celulare: *mitoza* (diviziune nucleară indirectă-*cariokineza*) pentru celulele corporale sau somatice și *meioza* (diviziunea *reducțională*) în procesul de formare a gameților. În timpul diviziunii nucleare indirecte, nucleul se restructurează complet ducînd la diferențierea unor structuri specifice cu rol esențial în ereditate — *cromozomii*.

CICLUL MITOTIC al celulei eucariote (cu nucleu adevărat cum sînt plantele și animalele) este reprezentat de o etapă metabolică (interfaza) și o etapă de diviziune nucleară și citoplasmică. Diviziunea mitotică sau *cariokineza* se petrece într-o celulă cu o garnitură dublă de cromozomi sau *diploidă* (structură simbolizată $2n$ cromozomi) determinînd nașterea a două celule identice în conținut cu cea inițială, deci celulele fiice vor fi tot diploide (rezultă două celule cu $2n$ cromozomi).

Includerea interfazei în ciclul diviziunii celulare este justificată de faptul că în această fază se desfășoară procesele pregătitoare ale mitozei propriu-zise. Astfel, în interfază celula are o intensă activitate de sinteză proteică (funcția heterocatalitică) și sinteza

replicativă a moleculei de ADN, care constituie procesul esențial al duplicării cromozomale (funcția autocatalitică). Duplicarea este *semiconservativă*, adică cele două subunități ale unei *cromatide* (subcromatide sau *cromoneme*) sînt matricea pentru sinteza a două noi subunități complementare. Deci, fiecare cromatidă va fi formată dintr-o subunitate nouă și una veche (*J. H. Taylor*, 1962). Ca urmare, cantitatea de ADN din nucleu se dublează comparativ cu cantitatea de ADN din nucleul telofazic al diviziunii celulare anterioare. La sfîrșitul interfazei cromozomii sînt duplicați, fiind formați din două cromatide.

În interfază are loc, de asemenea, sinteza replicativă a diferitelor tipuri de ARN și a proteinelor precum și crearea unei rezerve de energie necesară atît în timpul diviziunii propriu-zise dar mai ales în timpul pregătirilor pentru diviziune.

Faza de sinteză a ADN este precedată obligatoriu de sinteza ARN și a proteinelor de „inițiere", care modifică structura moleculară a cromozomilor creînd posibilitatea apariției punctelor de inițiere a replicării cromozomilor. Biosinteza proteică se desfășoară pe parcursul întregii interfaze.

MITOZA. Diviziunea indirectă sau cariokineza este forma superioară de diviziune celulară caracteristică țesuturilor corpului sau somei care posedă eucarion. Diviziunea mitotică are loc în țesuturile în plină creștere. Astfel, în țesuturile meristematice ale plantelor, în sînge, în țesuturile epidermice și altele, celulele se înmulțesc prin diviziune, constant și un timp îndelungat. În alte țesuturi, înmulțirea celulelor este redusă. Durata și ritmul diviziunii mitotice depinde de mărimea țesutului, respectiv de numărul celulelor și de funcțiile țesutului. Diviziunea celulară somatică asigură continuitatea genetică.

Procesul de diviziune începe la nivelul nucleului prin individualizarea *cromozomilor*, formațiuni specifice perioadei de diviziune celulară, se continuă cu diviziunea nucleului și se încheie prin diviziunea celulei. Denumirea de diviziune indirectă provine tocmai de

la faptul că diviziunea nucleului precede diviziunea celulei-mamă în cele două celule-fiice.

Diviziunea mitotică se petrece în celule-mamă diploide (2*n* cromozomi). În urma diviziunii mi-

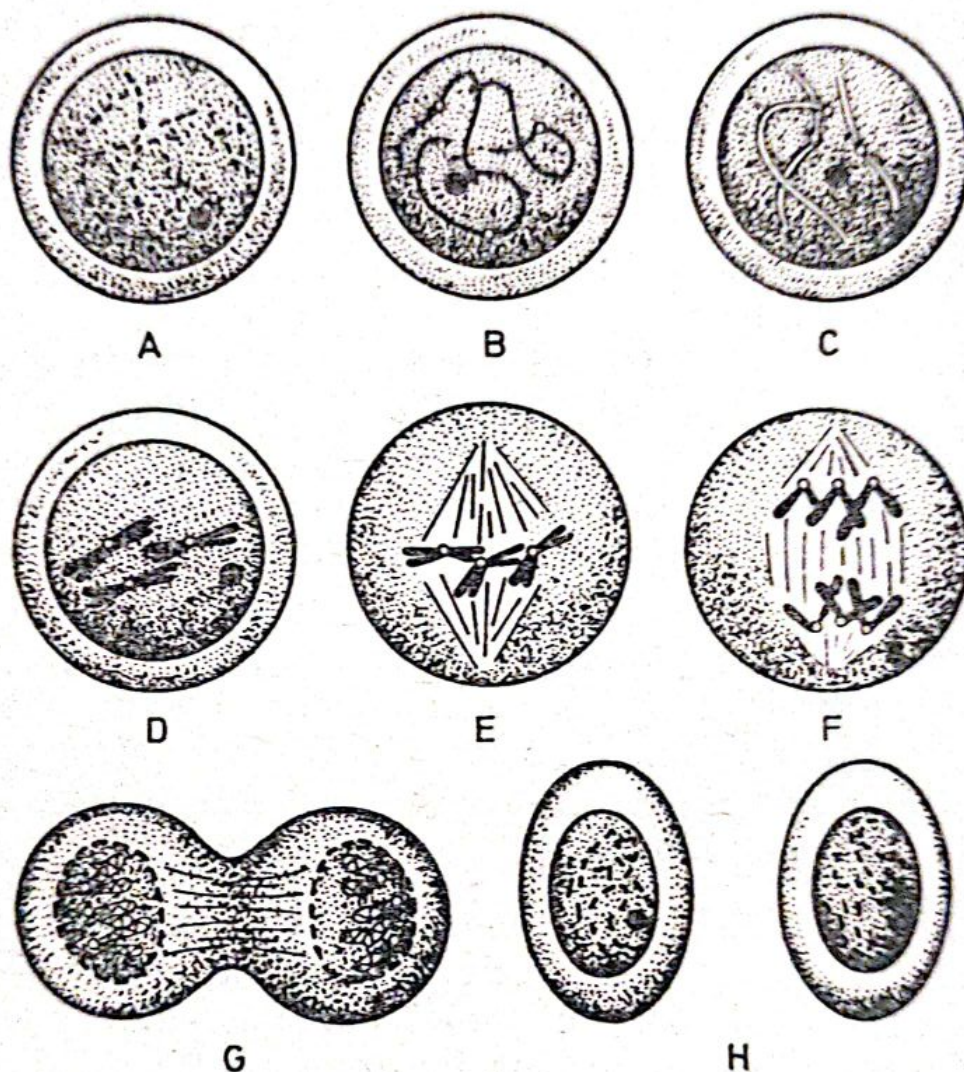


Fig. 2. Diviziunea celulară mitotică: A — interfază; B, C, D — profază; E — metafază; F — anafază; *G* — telofază; *H* — celule fiice.

totice celula se duplică, luînd naștere două celule-fiice, identice în conținut cu celula-mamă inițială (fig. 2).

În diviziunea mitotică se disting două laturi mai importante și anume: *cariokineza* sau diviziunea nucleară și *citokineza* sau diviziunea citoplasmei. În mod convențional diviziunea celulară a fost împărțită în cinci faze: interfaza, profaza, metafaza, anafaza și telofaza.

Cariokineza. I n t e r f a z a. În intervalul dintre două diviziuni numit *interfază*, celula prezintă un nucleu care, la microscopul optic, apare, în general, omogen. Sînt evidenţi şi nucleolii (unul sau mai mulţi). Starea relativ omogenă a nucleului, datorită despiralizării şi hidratării cromozomilor, a dus la emiterea părerii greşite că în interfază cromozomii dispar ca unităţi structurale, dizolvîndu-se în plasma nucleară. Studii electronomicroscopice au relevat însă că în nucleul interfazic se găseşte o reţea de fire care nu sînt altceva decît cromozomi („procromozomii"). Asemenea fire au fost observate în interfaza nucleilor la diverse organisme (lăcuste, salamandre, om ş.a.), ceea ce constituie dovezi ale continuităţii cromozomilor în interfază. Capătă din ce în ce mai mult credit ideea că în nucleul interfazic cromozomii au o anumită organizare spaţială.

În interfază cromatina are aspect diferit: reticulat cu sau fără cromocentrii, o reţea foarte fină de fibre de cromatină care prezintă regiuni heterocromatice intens colorate, semireticulat, cu sau fără cromocentrii, reticulat dar cu procromozomi, care sînt asociaţi cu membrana nucleară sau nucleolul. În această fază, cea mai lungă a ciclului celular, cromozomii sînt complet despiralizaţi (*J. D. Watson*, 1974).

Structura despiralizată şi extinsă a cromozomilor interfazici reprezintă tocmai condiţia funcţionării acestora atît în sensul replicării, cît şi în aceea a transcripţiei.

P r o f a z a. La început, în nucleul optic omogen, se structurează fire cromatice, care în urma unui proces de spiralizare (*spiralizare minoră* la începutul profazei) şi deshidratare se individualizează treptat (prin colorare, firele pot fi observate microscopic). Aceste filamente fine şi alungite, denumite cromozomi profazici, se încolăcesc formînd un fel de ghem, denumit *spirem*. Procesul continuă cu scurtarea, răsucirea şi contracţia filamentelor în urma unei superspiralizări (printr-o *spiralizare somatică* ce are loc spre sfîrşitul profazei). Ca urmare, filamentele cresc în diametru, devenind

mai scurte, mai groase și distincte. Fiecare din aceste fragmente reprezintă un cromozom care are o structură longitudinală dublă, fiind constituit din *două cromatide* unite în regiunea centromerului (la nivelul acestei regiuni cromozomul se atașează de firele fusului de diviziune). Cromozomii au o structură helicoidală datorită răsucirii cromatidelor una în jurul celeilalte (*helix*). Din cauza unei repulsii generale existentă între ei cromozomii nu intră în contact unii cu alții.

În mod obișnuit în această fază are loc dispariția nucleolilor (la începutul metafazei ei nu se mai observă), prin reducerea treptată a părții amorfe a acestora. Nu se știe încă precis dacă partea nucleolilor alcătuită din granule și fibrile rămîne dispersată în apropierea cromozomilor sau dacă se încorporează în aceștia. În general, substanța nucleolară se deplasează odată cu cromozomii, participă la comportamentul lor mitotic și este transportată de aceștia în nucleii-fii. Se apreciază că o parte sau toată substanța nucleolară participă la formarea fusului de diviziune, de aici și explicația că substanța fusului este de natură ribonucleoproteică (acid ribonucleic asociat cu proteine bazice). Se pare că nucleolii au funcția de a pregăti celula pentru diviziune. Reorganizarea nucleolilor are loc la sfîrșitul diviziunii. Ei sînt sintetizați și localizați la nivelul unei zone specifice ale cromozomilor denumită *organizator nucleolar*. În celulele animale, în mod obișnuit, nucleolii nu persistă în timpul diviziunii. (*L. Gavrilă, I. Dăbală*, 1975).

Rolul nucleolului în diviziune pare a fi esențial. S-a constatat astfel că dacă din celulele de *Vicia faba* se extrag nucleolii, ele pierd capacitatea de a se mai divide.

În profază, concomitent cu apariția și individualizarea cromozomilor, membrana nucleară se fragmentează. Cînd membrana nucleară începe să se dezintegreze, în celulă are loc stabilirea polilor de diviziune prin apariția unei structuri fuziforme fibrilare denumită *fus de diviziune*. În celulele animale, ca și la unele grupe de plante inferioare, polii fusului de diviziune sînt reprezentați de centrioli (particulă centrală duplex

din centrozom, situat în apropierea nucleului). În profază centriolii devin activi, autoduplicîndu-se. Ca urmare, înaintea începerii diviziunii nucleare, în celulă, se vor găsi două perechi de centrioli. La sfîrşitul profazei, cîte o pereche migrează spre puncte diametral opuse în raport cu nucleul, determinînd poziţia polilor fusului de diviziune. Migrarea acestor organite are loc concomitent cu alungirea fibrelor intercentriolare care formează fusul central de diviziune.

La plantele superioare la care nu s-a detectat prezenţa centriolilor, mecanismul de stabilire a polilor fusului de diviziune este încă prea puţin cunoscut. La acestea, localizarea şi stabilirea polilor fusului de diviziune este determinată de structura citoplasmei. Fusul central de diviziune este alcătuit din fibre sau tubuli continui care se întind între cei doi poli ai săi şi din semifibre cromozomale fusoriale (produse de centromeri) care leagă centromerii cromozomilor de poli.

Ansamblul centri mitotici (centrozomul şi centriolii la animale şi unele plante inferioare), asteri şi fusul central acromatic, reprezintă aşa-numitul *aparat mitotic*.

Proteinele ce intră în alcătuirea tubulilor fusului de diviziune sînt sintetizate anterior diviziunii fiind unite prin grupări bisulfitice (—S—S—). Ele sînt similare în natură proteinelor nucleolare. Rezultă că proteinele fusonale sînt ribonucleoproteine.

După dezintegrarea membranei nucleare şi formarea fusului de diviziune are loc dispunerea cromozomilor în placa ecuatorială, situată la jumătatea distanţei dintre poli. Se consideră că migrarea cromozomilor spre regiunea ecuatorială a celulei este controlată de fusul de diviziune, iar pe de altă parte, de activizarea centromerului sau regiunii centromerice care asigură vehicularea cromozomului.

Centromerul este o regiune distinctă şi specializată a cromozomului, la nivelul căreia are loc ataşarea cromozomilor de tubulii fusului de diviziune în timpul metafazei. Totodată, centromerii asigură mişcarea cromozomilor. S-a stabilit faptul că, cromozo-

mii fără centromer (acentrici) nu se pot orienta spre regiunea ecuatorială și spre polii celulei și ca urmare sînt eliminați.

M e t a f a z a. În metafază cromozomii sînt duplicați (duplicarea lor a avut loc în interfază). În metafază se duplică regiunea centromerului, care de fapt nu s-a duplicat în interfază.

Metafaza se caracterizează prin formarea *plăcii ecuatoriale* sau *metafazice*. În structura plăcii cromozomii se dispun într-un singur plan perpendicular pe axa longitudinală a fusului de diviziune. Fiecare cromozom se leagă prin centromer de unul dintre tubulii continui ai fusului de diviziune și de fibrele cromozomale fusoriale care se întind de la centromer la unul din polii fusului. Faptul că fiecare cromozom metafazic are doi centromeri, cîte unul pentru fiecare din cei doi membri (cromatide), permite ca aceștia să devină în ana-telofază cromozomi-fii. Diviziunea longitudinală a centromerului este procesul care precede separarea celor două cromatide ale unui cromozom. Separarea cromozomilor-fii este determinată de repulsia ce se manifestă între centromerii-fii. (*C. D. Darlington*, 1963).

Prin clivarea longitudinală se asigură repartizarea cu cea mai mare exactitate a materialului genetic (a cromozomilor), în celulele-fiice.

Placa metafazică lipsește la unele grupe de organisme inferioare cum sînt protozoarele. La aceste organisme, cu toate că membrana nucleară nu se dezintegrează, cromozomii se repartizează spre poli ca în cariokineza tipică.

Forma plăcii ecuatoriale este constantă la același tip de celulă, variind de la un tip de celulă la altul sau de la o specie la alta. Dispunerea cromozomilor în placa metafazică este caracteristică (ocupînd întotdeauna același loc și avînd aceleași raporturi de vecinătate). Astfel, foarte frecvent sînt situați în jurul plăcii ecuatoriale în timp ce în cîteva cazuri, unii cromozomi sînt situați central, iar alții spre periferia plăcii metafazice. Utilizarea unor factori externi cum sînt: tem-

peratura sau unele substanţe chimice (colchicina) poate afecta poziţia şi raporturile de vecinătate dintre cromozomi în placa ecuatorială.

În metafază *cariotipul* (numărul, mărimea şi forma cromozomilor) are trăsături caracteristice, fiind potrivit pentru analiză microscopică. Fiind singurele elemente permanente ale nucleului şi apărînd într-un număr şi morfologie constante, cromozomii asigură identificarea diverselor specii.

A n a f a z a. În această fază are loc separarea şi deplasarea spre cei doi poli a cromozomilor-fii rezultaţi din cele două cromatide ale cromozomului iniţial. În timpul mişcării spre poli, fibrele cromozomale semifusoriale, care leagă cromozomii de poli, se contractă, iar tubulii continui pol-pol se alungesc. Ca urmare, cromozomilor le este imprimată deplasarea spre polii fusului de diviziune. Mişcarea cromozomilor spre poli de-a lungul tubulilor continui ai fusului este controlată de centromer.

Trecerea de la metafază la anafază este marcată de duplicarea centromerului care este urmată imediat de separarea cromozomilor-fii. În general, separarea anafazică are loc numai după includerea tuturor cromozomilor în placa metafazică. Mişcarea spre poli a cromozomilor are loc cu o viteză cuprinsă între 0,2 μm/minut şi 5 μm/minut. Cele două seturi de cromozomi migrează spre direcţii opuse aproape sincron formînd la nivelul polilor cîte o „placă anafazică". În diverse cazuri, unii cromozomi se deplasează precoce, iar alţii cu întîrziere. Oricum, mişcarea cromozomilor spre poli este continuă, liniară şi individuală. În mod obişnuit, autozomii se deplasează concomitent, în timp ce heterozomii (cromozomii sexului) se mişcă cu o altă viteză (de regulă mai mică).

Mişcarea cromozomilor spre poli este favorizată de alungirea fusului de diviziune precum şi de contractarea fibrelor cromozomale ce leagă cromozomii de poli prin centromerii lor (fibrele se contractă la o cincime din lungimea iniţială). În urma migrării cromozomilor-fii spre unul sau altul din poli rezultă două grupe de cro-

mozomi cu constituţie genetică identică, similară cu aceea a cromozomilor din celula-mamă.

T e l o f a z a. La cei doi poli ai celulei, cromozomii formează cîte un nucleu separat pentru fiecare viitoare celulă-fiică. Apoi, au loc procese opuse profazei: cromozomii își pierd individualitatea, se despiralizează și decondensează. Astfel ia naștere un nucleu cu structură reticulată.

Spre sfîrșitul anafazei, reticulul endoplasmic și fragmentele de membrană nucleară, sub forma unor vezicule, migrează spre polii fusului de diviziune. În telofază aceste vezicule se grupează în jurul cromozomilor, capătă o formă aplatizată și înconjură nucleul telofazic. Se formează astfel membrana nucleară pentru fiecare nucleu-fiu. În unele celule se observă că veziculele membranoase se distribuie atît spre masa cromozomilor la cei doi poli opuși cît și la nivelul liniei de separare a celor două celule-fiice. Spre ecuatorul fusului și deci al liniei de separare are loc o aglomerare de reticul endoplasmic cu ribozomi și de material fusorial.

În telofază se produce reorganizarea nucleolilor de către regiunile organizatorilor nucleolari situate în constricțiile secundare ale cromozomilor. Nucleolii apar sub forma unor corpusculi sferici.

Concomitent cu formarea nucleilor-fii, aparatul mitotic se dezintegrează și dispare.

După cum s-a precizat, în interfază, cromatidele devin extrem de fine, iar matrixul sau teaca cromozomală dispare (după unii autori matrixul se adaugă la suprafața cromozomilor în profază și dispare în telofază). S-a constatat totuși că în interfază, la unele organisme inferioare (de exemplu, la unele alge), cromozomii manifestă un grad înalt de condensare și individualitate. Un fenomen asemănător poate fi observat și la eucariotele evoluate, la care uneori în interfază unele regiuni cromozomale sau cromozomi întregi își pot păstra matrixul și condensarea (de exemplu, unii cromozomi univalenți și unii cromozomi heterocromatici care pot forma cromocentrii).

Repartizarea în fiecare celulă-fiică a unui set complet de cromozomi, caracteristic diverselor specii, are la bază faptul că încă în interfază, fiecare cromozom suferă un proces de dublare, de duplicare, prin sinteză de material genetic.

După telofază începe interfaza în care se disting trei perioade: G1, S și G2.

Perioada presintezei, G1 (l. engl. *gap* — gol) reprezintă un interval de la începutul interfazei cînd cromozomii au o cantitate de ADN (de acid dezoxiribonucleic) egală cu aceea din anafază și telofază, adică 2C (două cromoneme).

Perioada de sinteză, S, a ciclului mitotic este situată în intervalul median al interfazei. În această perioadă are loc o îngroșare sensibilă a fibrelor de cromatină al căror diametru crește de la 0,1—0,15 μm la 0,3—0,5 μm. În această perioadă are loc duplicarea cromozomilor.

Durata perioadei S este specifică și constantă. Aceste trăsături ale perioadei de sinteză sînt determinate de faptul că sinteza replicativă a ADN are loc într-o matrice particulară, mereu aceeași pentru specia dată, și este controlată genetic.

La sfîrșitul perioadei de sinteză, cromozomii se află în faza de 4C (4 cromoneme), deci au o cantitate dublă de ADN.

Intervalul premergător diviziunii mitotice este numit *perioada de postsinteză*, G2.

Potrivit cercetărilor lui *V. Monesi* (1967), care a marcat cu timidină tritiată (3 H-timidină) populații de celule de hamster, ciclul celular are o durată de circa 17,5 ore. Din acest timp, perioada presintezei (G1 inclusiv anafaza și telofaza) durează circa 4,5 ore, perioada de sinteză (S) durează circa 10 ore, iar perioada de postsinteză (G2 pînă la metafază) durează 3 ore.

Mitoza asigură repartizarea în celulele-fiice a unei cantități egale de material genetic. Datorită acestui fapt, diviziunea celulară reprezintă un mecanism biologic fundamental, care determină transmiterea infor-

mației genetice și continuitatea materialului genetic de-a lungul generațiilor celulare.

Citokineza. Diviziunea nucleului este urmată, de regulă, de diviziunea citoplasmei (citokineza). Pentru aceasta, la plante, în regiunea mediană a celulei în plină diviziune, se formează începînd cu anafaza membrana plasmatică și peretele celular (pe seama citoplasmei din elemente microtubulare, provenite din reticulul endoplasmic și din fusul de diviziune), care desparte cele două celule-fiice. Corpusculul plasmatic de forma unei lentile biconvexe din care se formează membrana plasmatică poartă denumirea de *fragmoplast*.

Procesul de citokineză are loc în felul următor: în jurul elementelor microtubulare, la nivelul ecuatorului spre locul unde a existat placa metafazică, are loc o aglomerare de vezicule mici (denumite *fragmozomi*), produse de aparatul Golgi și probabil și de alte organite. Aceste vezicule suferă un proces de extindere și de contopire, din care rezultă lamela mijlocie, care realizează separarea celor două celule-fiice. Membrana plasmatică nu este continuă, ci între celulele-fiice rămîn punți citoplasmice — *plasmadesme* — ce străbat membrana plasmatică și peretele celular separator (impregnat cu pectină). La animale, citokineza și separarea celulelor-fiice are la bază un proces de strangulare sau o constricție mediană. Se apreciază că adîncirea șanțului de diviziune a celulelor rezultă din contracția inelului de microfibrile ecuatoriale, proces care determină în final separarea celor două celule-fiice.

În mod obișnuit, mitoza și citokineza se succed în timp cu rigurozitate. Astfel, dacă diviziunea citoplasmei este inhibată, cariokineza se poate desfășura normal, caz în care rezultă o celulă binucleată. Anterior citokinezei are loc și repartizarea organitelor celulare din celula-mamă în cele două celule-fiice. Distribuția componentelor protoplasmice în cele două celule-fiice este foarte precisă și exact egală fiind controlată genetic.

De exemplu, mitocondriile, în metafază, se adună în jurul fusului. Apoi, în ana-telofază are loc separarea și repartizarea mitocondriilor în celulele-fiice.

Pentru desfășurarea mitozei este necesară o cantitate de energie în plus față de normal. Ca urmare, în preajma intrării celulei în diviziune are loc o creștere substanțială a cantității de substanțe macroergice (adenozintrifosfat — ATP).

Inițierea diviziunii celulare poate fi inhibată dacă este blocată respirația și fosforilarea oxidativă. În cazul în care celula a intrat deja în diviziune ea continuă să se dividă normal chiar dacă va fi supusă acțiunii unor inhibitori ai respirației și ai fosforilării oxidative. De aici se poate trage concluzia că energia necesară diviziunii a fost depozitată în celulă încă din interfază.

Procesele metabolice și activitatea de biosinteză a celulei au valori maxime în interfază. După începutul diviziunii, aceste activități se reduc treptat, astfel încît în metafază ele ajung la valori minime. Se consideră că proteinele fusoriale prin grupările sulfitice pe care le conțin afectează diverse aspecte ale desfășurării diviziunii celulare. În primul rînd aceste proteine sînt implicate în structura și aspectul fusului de diviziune și a cromozomilor, iar în al doilea rînd în potențialul redox și în cantitatea de energie din celulă.

Durata mitozei este în funcție de tipul de celule și specie, de vîrsta individului și de condițiile de viață, dar se încadrează, în general, într-un timp care variază de la cîteva minute pînă la cîteva zeci de ore. De exemplu, la *Amoeba respertilio*, durata diviziunii celulare este de circa 5 minute, la bacterii este de circa 20 minute, în vîrfurile de creștere ale rădăcinii, mitoza durează circa 20 ore, iar la *Tradescantia* aproximativ 30 de ore. Durata în timp a fiecărei faze mitotice este și ea diferită; profaza reprezintă 60% din durata întregului ciclu mitotic, metafază 5%, anafaza 5%, iar telofaza 30%.

MEIOZA. Diviziunea *meiotică*, denumită și *reducțională*, reprezintă totalitatea fenomenelor complexe pre-

mergătoare formării gameților. Ea are loc numai în celulele germinale din organele sexuale, deci numai la organismele care se reproduc sexuat.

Meioza constă din două diviziuni nucleare, succesive, de un tip deosebit, una reducțională (indicată prin

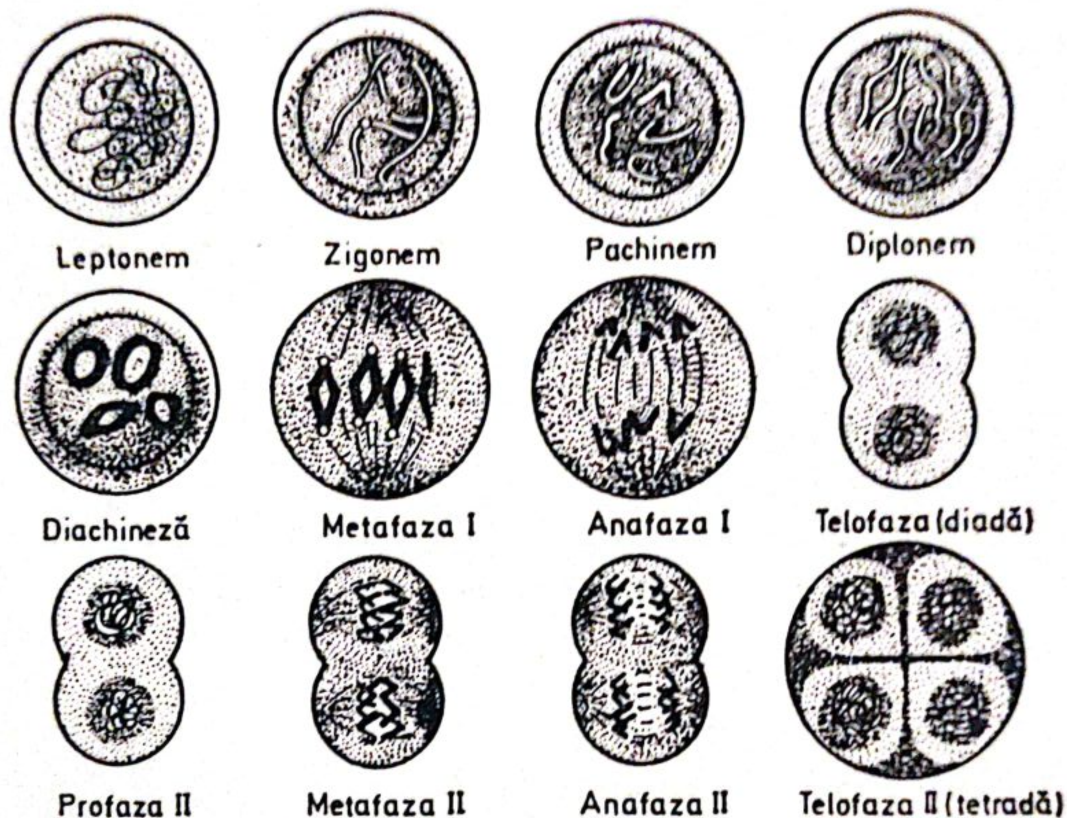


Fig. 3. Diviziune celulară reducțională sau meioză.

I sau primară) și una normală mitotică ecuațională (indicată prin II sau secundară) (fig. 3).

Prima diviziune se numește *heterotipică*, deoarece se deosebește de mitoza obișnuită. În această diviziune, din celule diploide, care au două garnituri de cromozomi ($2n$), una de proveniență maternă, cealaltă paternă, iau naștere doi nuclei haploizi (n). A doua, diviziune *de maturație*, se numește *homotipică* și este asemănătoare mitozei obișnuite. În această diviziune are loc separarea cromatidelor în fiecare din cei doi nuclei haploizi, ceea ce determină producerea a patru nuclei haploizi, care în urma unor anumite procese dau naștere gameților sau celulelor sexuale gametice.

Caracteristic pentru meioză este faptul că deși se succed două diviziuni, replicarea cromozomilor nu se face decît o singură dată.

Prima diviziune a meiozei. Profaza I (P I). În această fază au loc schimbări profunde cu o deosebită semnificaţie genetică. Profaza I diferă în esenţă de cea tipică, fiind de mai lungă durată, mai variată şi prezintă o serie de modificări caracteristice ale substanţei cromatice, denumite *fenomene sinaptice*. Procesele care însoţesc aceste modificări ale cromozomilor au loc în mai multe stadii distincte, denumite: leptonem, zigonem, pachinem, diplonem şi diakineză.

— Stadiul de *leptonem* (grec. *leptos* — subţire; *néma* — fibră): nucleul celulei are un număr dublu de cromozomi (2*n*). Cromozomii apar sub forma de filamente subţiri, îndoite în toate direcţiile, fiecare din ele corespunzînd unui cromozom (unei cromatide), adus fie de părintele matern, fie de cel patern. Deci, în leptonem, cei doi membri (cele două cromatide) ai fiecărei perechi de cromozomi homologi nu sînt asociaţi, fiind separaţi între ei de distanţe de cîţiva microni. Astfel, ei apar independenţi, în stare de *monovalenţi cromozomali* (cîte doi monovalenţi pentru un cromozom somatic).

Cu toate că replicarea cromozomilor a avut loc înainte de leptonem, cromozomii monovalenţi se prezintă la microscop ca un filament unic nedivizat în subcromatide. Totuşi experienţe ce au constat în iradierea cromozomilor leptonemici au dovedit faptul că în stadiul de leptonem, cromozomii sînt duplicaţi, fiind alcătuiţi din două cromatide.

În nucleul leptonemic, cromozomii manifestă o polarizare deosebită, situîndu-se cu braţele spre un singur punct, din care cauză această dispunere s-a numit „buchet". Dispunerea în buchet este caracteristică stadiului de leptonem la *Lilium sp*. şi stadiului de zigonem (următor leptonemului) la porumb. Formarea buchetului este rezultatul interacţiunii capetelor cromozomilor cu centrii mitotici.

În stadiul de leptonem nucleolul îşi dublează volumul prin creşterea cantităţii de proteine şi, respectiv cantitatea de ARN.

— Stadiul de *zigonem* (grec *zygon* — jug), se caracterizează printr-o scurtare în lungime şi creşterea în

diametru a cromozomilor monovalenţi datorită spiralizării, urmată de împerecherea sau conjugarea (*sinapsa*) cromozomilor homologi (cu asemănări structurale şi funcţionale). Sinapsa determină formarea *bivalenţilor cromozomali* (un partener al fiecărei perechi fiind de origine maternă, iar celălalt partener fiind de origine paternă). Polarizarea facilitează posibilitatea unirii iniţiale a cromozomilor homologi.

După realizarea primelor contacte între cromozomii homologi, urmează conjugarea acestora după mecanismul de închidere a fermoarului. La început, cromozomii homologi se dispun paralel, apoi aceştia intră în contact fie la un singur capăt, fie la ambele capete, după care conjugarea se desăvîrşeşte pe toată lungimea lor. Conjugarea cromozomilor homologi începe în vecinătatea membranei nucleare, deoarece, după cum s-a arătat, monovalenţii sînt dispuşi cu ambele capete spre membrana nucleară. Faptul că fiecare cromozom formează o buclă spre interiorul nucleului determină configuraţia de „buchet".

Conjugarea cromozomilor homologi se realizează cu o precizie desăvîrşită. De altfel sinapsa cromozomilor homologi reprezintă evenimentul cel mai important al meiozei deoarece de aceasta depinde reducerea numărului de cromozomi, şi schimbul reciproc de material genetic între cromozomii homologi (*crossing overul*).

S-a menţionat că sinapsa poate începe la unul din capete, la ambele capete sau în mai multe puncte pe lungimea cromozomilor homologi. Conjugarea iniţiată la capetele cromozomilor de unde migrează spre centromer s-a numit *conjugare proterminală*. Conjugarea la întîmplare în diverse regiuni ale cromozomilor homologi a fost numită *conjugare intermediară*. Cînd contactul se realizează la nivelul centromerului de unde împerecherea migrează spre capetele cromozomilor conjugarea a fost numită *procentrică*. În general, conjugarea este un proces care se desfăşoară lent. In urma conjugării cromozomilor homologi se realizează punerea în contact a fiecărei cromomere sau punct dintr-un membru cromozomal cu cromomera sau punctele homologe corespunzătoare din celălalt membru cromozomal.

După coalinierea cromozomilor homologi împerecherea intimă a acestora este determinată de formarea *complexului sinaptinemal*. Complexul sinaptinemal reprezintă tocmai elementul structural caracteristic meiozei între cei doi cromozomi homologi ai unui bivalent. Complexul sinaptinemal a fost descoperit la pești, apoi existența lui a fost relevată la multe specii de plante și animale, inclusiv la organismele eucariote inferioare. Complexul sinaptinemal este de natură proteică.

După *M. Westergaard* și *D. von Wettstein* (1972), complexul sinaptinemal este format din trei părți și anume: un element central sau o axă de aproximativ 160 Å lățime (situat de-a lungul celor doi cromozomi homologi conjugați), din două elemente laterale de circa 400 Å cîte unul pentru fiecare cromozom homolog și fibrile sau spire de legătură (situate între cei doi cromozomi).

Asemenea cromozomilor și complexul sinaptinemal al fiecărui cromozom homolog este atașat la membrana nucleară cu ambele capete.

Complexul sinaptinemal păstrează contactul cu membrana nucleară și în stadiul de pachinem cînd concomitent cu cromozomii se scurtează treptat.

Complexul sinaptinemal a apărut în procesul evoluției ca un mecanism de menținere în stare de funcționare a cromozomilor conjugați și de asigurare a bazei structurale necesare realizării recombinării genice prin schimb reciproc de segmente între cromozomii homologi, proces denumit *crossing over*. Cu toate acestea, mecanismul intim al împerecherii cromozomilor homologi și recombinării genice este încă foarte puțin cunoscut.

Se apreciază că fenomenul împerecherii cromozomilor homologi este determinat de mecanisme biochimice și biofizice complexe, a căror natură abia începe a fi descifrată la nivel molecular.

Stadiul de *pachinem* (grec. *pachyns*=gros) se caracterizează printr-o durată mai mare, în care persistă sinapsa cromozomilor și deci și complexul sinaptinemal. Caracteristic acestui stadiu este îngroșarea și scurtarea bivalenților, cei doi membri ai bivalentului se răsu-

cesc unul în jurul celuilalt. Datorită sinapsei și proceselor de condensare se realizează o reducere aparentă a numărului diploid de cromozomi, astfel că numărul de cromozomi este egal cu jumătate din numărul somatic de cromozomi. În realitate, fiecare membru al bivalentului este duplicat fiind format din două cromatide surori.

În pachinem se desăvîrșește fenomenul de schimb reciproc de segmente între cromatidele ne-surori ale cromozomilor homologi, prin crossing over.

Stadiul de *diplonem* (grec. *diplos*=dublu). În acest stadiu cromozomii continuă să se contracte și să se scurteze. În diplonem, la microscop, se poate observa structura dublă longitudinală a fiecărui membru a bivalentului. Ca urmare, fiecare pereche de cromozomi homologi este alcătuită din două cromatide surori de origine maternă și două cromatide surori de origine paternă. Formațiunea din patru cromatide este denumită *tetradă cromozomală*.

În stadiul de diplonem între cromozomii homologi la nivelul centromerilor se manifestă o respingere care-i îndepărtează unul de altul determinînd în final separarea celor doi cromozomi homologi din bivalenți. Cromatidele ne-surori ale cromozomilor homologi rămîn unite în anumite puncte numite chiasme (l. grec. *chiasma* sing., *chiasmata* pl. — cruce, încrucișare), la nivelul cărora a avut loc crossing overul. Chiasma reprezintă expresia citologică a fenomenului de crossing over care constă în schimbul reciproc de segmente cromatidice materne și paterne (între cromatidele ne-surori ale cromozomilor homologi). Chiasmele țin uniți cromozomii homologi între ei pînă la separarea lor în anafaza I. În diplonem, nucleolul se reduce în mărime.

Stadiul de *diakineză* (grec. *dia*=prin; *kinesis*=mișcare). În acest stadiu contracția cromozomilor atinge aproape limita maximă. Cromozomii homologi încep să se îndepărteze unul de altul odată cu dezintegrarea complexului sinaptinemal. Anterior separării cromozomilor homologi are loc sinteza de către ADN-polimeraza a unui ADN care reface zonele rupte

în fenomenul de crossing over, bazat pe ruperea și reunirea cromozomilor homologi.

Configurația bivalenților în diakineză diferă în funcție de lungimea cromozomilor și poziția chiasmelor. Bivalenții în cazul cromozomilor foarte mici apar ca două sfere adiacente. În cazul cromozomilor lungi, bivalenții, în funcție de numărul și poziția chiasmelor, pot avea formă alungită, inelară, dublu inelară etc.

În acest stadiu cromozomii se scurtează puternic, concomitent cu o migrare a punctelor de contact intercromatidice spre capetele cromozomilor, fenomen denumit *terminalizarea chiasmelor*. Prin alunecarea chiasmelor dinspre centromer spre capetele cromozomilor se reduce numărul chiasmelor intermediare și ca urmare, membrii bivalenților rămîn legați pînă în faza următoare, metafaza I, prin chiasme terminale.

În stadiul de diakineză, nucleolul se dezintegrează, iar materialul nucleolar este incorporat în cromozomi și în fusul de diviziune.

Spre sfîrșitul stadiului de diakineză se produce fragmentarea membranei nucleare și formarea fusului de diviziune. Cercetări electronomicroscopice au relevat faptul că legăturile centromer-pol prin intermediul fibrelor semifusoriale sau cromozomale apar încă spre sfîrșitul profazei I. Astfel, prin centromerul lor, fiecare dintre membrii bivalentului este legat de unul din cei doi poli.

M e t a f a z a I (M I). Această fază se caracterizează prin dispariția membranei nucleare și formarea fusului central bipolar. Apoi, cromozomii bivalenți, care au atins o contractare maximă, formează placa metafazică orientîndu-se în regiunea ecuatorială a fusului în așa fel încît membrii fiecărui bivalent sînt orientați cîte unul spre un alt pol. Fiecare cromozom prin regiunea centromerică se atașează de unul din tubulii fusului de diviziune.

Trebuie menționat faptul că deși regiunea centromerică a fiecărui membru a bivalentului este dublă, ea funcționează ca o unitate care va transporta cele două cromatide surori, fie spre un pol, fie spre celălalt

pol al fusului de diviziune. Cei doi centromeri-fii pentru fiecare membru al bivalentului, foarte strîns uniți în diviziunea heterotipică, se vor separa în a doua diviziune a meiozei. În partea finală a metafazei I are loc o accentuare a respingerii centromerilor membrilor bivalentului, fenomen ce asigură ruperea chiasmelor terminale și despărțirea cromozomilor homologi.

A n a f a z a I (A I). Cromozomii homologi se separă și migrează spre poli. Din acest moment, fiecare cromozom se prezintă ca o structură tipică, cu două cromatide.

Cromatidele migrează perechi deoarece sînt unite la nivelul centromerului care nu s-a divizat. Anafaza I determină astfel separarea celor două cromatide de origine maternă care se deplasează spre un pol de cele două cromatide de origine paternă care se deplasează spre celălalt pol. Acest fenomen a fost numit *prereducere cromatică* (nucleul apare format dintr-un număr haploid de cromozomi).

T e l o f a z a I (T I). Cromozomii, în număr haploid, *n*, ajung la poli și se regrupează în noii nuclei fii.

La fiecare pol ajunge jumătate din numărul inițial de cromozomi, deci, prima diviziune meiotică este din această cauză reducțională. În telofaza I cromozomii suferă modificări caracteristice telofazei mitotice: se despiralizează și decontractează, rămînînd fie sub forma unor structuri filiforme, fie că își pierd individualitatea. La fiecare pol, în jurul cromozomilor se reorganizează nucleul telofazic cu membrană nucleară și nucleoli. Noii nuclei telofazici haploizi formează o *diadă nucleară*.

La sfîrșitul telofazei I, are loc citokineza, prin formarea între cei doi nuclei a unei membrane celulare care divizează celula-mamă în două celule fiice, de unde denumirea dată acestei formațiuni de *diadă celulară*.

Deci, în urma primei diviziuni meiotice rezultă doi nuclei fii haploizi. Datorită acestui fapt, această diviziune a fost numită *reducțională* sau *heterotipică*, căci pornindu-se de la o celulă diploidă, $2n$, se ajunge la două celule haploide, n.

După diviziunea heterotipică, reducţională, urmează a doua diviziune meiotică, *homotipică*, care se desfăşoară după tipul unei mitoze obişnuite şi constă în separarea cromatidelor surori formate încă în profaza I şi dedublarea funcţională a centromerului (în metafaza II).

Trecerea sau interfaza dintre prima şi a doua diviziune meiotică este scurtă sau poate lipsi deoarece acest moment nu implică replicarea ADN.

A doua diviziune a meiozei constă în diviziunea celor doi nuclei haploizi rezultaţi din diviziunea reducţională. Se formează astfel patru nuclei haploizi. Cromozomii (alcătuiţi din două cromatide încă din profaza I) în această diviziune pot reprezenta un mozaic de material genetic matern şi patern datorită fenomenului de crossing over care a avut loc în profaza I.

Diviziunea homotipică se desfăşoară astfel:

Profaza II. Cromozomii bicromatidici devin vizibili prin spiralizare şi contractare, luînd forma literei X (braţele cromatidelor se resping dar ele sînt unite în regiunea centromerică).

Structura genică a celor două cromatide ale fiecărui cromozom din P II depinde de numărul şi tipul crossing overelor. În situaţiile în care se manifestă un linkage absolut, cromozomul este alcătuit din două cromatide surori identice, provenite fie de la mamă, fie de la tată. În cazurile în care a avut loc fenomenul de crossing over, cromatidele vor fi formate din segmente heterogene (egale sau inegale), unele de origine maternă, altele de origine paternă.

La sfîrşitul profazei II are loc dezintegrarea membranei nucleare şi formarea fusului de diviziune.

Metafaza II. Cromozomii se orientează în placa ecuatorială ataşîndu-se de fibrele fusului. Datorită structurii duble centromerul fiecărui cromozom bicromatidic se manifestă dublu structural şi funcţional. Centromerii şi polii de diviziune sînt legaţi prin fibre fusoriale cromozomale.

A n a f a z a II. Are loc separarea cromatidelor și centromerilor și deplasarea cromozomilor-fii monocromatidici spre cei doi poli.

T e l o f a z a II. Cromozomii își pierd individualitatea, încorporîndu-se în cei patru nuclei-fii haploizi care conțin doar cîte un membru din fiecare cromozom somatic parental. Datorită însă crossing overului, fiecare dintre acești cromozomi-fii pot conține material genetic heterogen, atît de origine maternă cît și de origine paternă.

În telofaza II se formează membrana nucleară. La încheierea diviziunii homotipice dintr-o celulă originară diploidă rezultă patru nuclei haploizi care alcătuiesc o *tetradă nucleară* (respectiv *tetradă celulară*). Celulele tetradei, în urma unor procese specifice, se dezvoltă în gameți.

În celulele meiotice citokineza nu este obligatorie. În general, are loc în procesul de formare a microsporocitelor la plantele superioare și survine atît la sfîrșitul primei cît și la sfîrșitul celei de-a doua diviziuni meiotice. Astfel apar patru microspori din care se dezvoltă patru grăunciori de polen. Citokineza are loc și în formarea spermatocitelor la animale din care prin procesele de spermiogeneză rezultă din fiecare celulă meiotică patru spermatozoizi funcționali.

În urma meiozei, în procesele de formare a gameților femeli, atît la plantele superioare, cît și la animale, dintr-o celulă diploidă originală se dezvoltă și devine funcțională o singură celulă haploidă: *oosfera* la plante, *ovulul* la animale.

GAMETOGENEZA ȘI SINGAMIA

Reproducerea sexuată, predominantă în regnul animal și larg răspîndită în regnul vegetal, presupune formarea gameților femeli și masculi, precum și unirea (în timpul fecundării) gameților femeli și masculi,

care constă în fuziunea nucleilor (*cariogamie*) și formarea unei celule-ou fecundate sau *zigot*. Procesele care însoțesc formarea gameților sînt reunite în fenomenul de *gametogeneză*, iar procesele care duc la apariția zigotului sînt reprezentate de fenomenul de *singamie* (care include *cariogamia* și *plasmogamia*). Singamia face ca cromozomii homologi care au fost separați în cursul meiozei (în gameți haploizi) să fie din nou asociați împreună (în zigotul diploid).

Formarea gameților femeli este indicată de noțiunea de *megasporogeneză* la plantele superioare și *oogeneză* (*ovogeneză*) la animale, iar formarea gameților masculi este indicată de noțiunea de *microsporogeneză* la plante și *spermatogeneză* la animale.

MEGASPOROGENEZA. Formarea gameților femeli la majoritatea plantelor cu flori (angiosperme) are loc în urma unor procese similare. Cele patru celule care alcătuiesc tetrada rezultate din meioză reprezintă *megasporii*. Trei dintre megaspori se dizolvă. Al patrulea megaspor se dezvoltă alcătuind *sacul embrionar*. Apoi, nucleul sacului embrionar trece prin trei diviziuni mitotice succesive, în urma cărora rezultă opt nuclei haploizi. Aceștia îndeplinesc următoarele funcțiuni:

— unul din cei trei nuclei situați lîngă micropil (deschidere, canal, în partea apicală a învelișului ovulului prin care pătrunde tubul polinic), devine *oosferă* (n), ceilalți doi formează *sinergidele*;

— doi nuclei, cîte unul de la fiecare pol, migrează spre centru, se contopesc, formînd *nucleul secundar* sau *de fuziune* al sacului embrionar ($2n$);

— trei nuclei de la polul opus al sacului embrionar formează *antipodele* (fig. 4).

OVOGENEZA. La animalele superioare, procesul de formare a gameților femeli se petrece în țesuturile ovarului. Celula sexuală feminină, *ovogonul* ($2n$) trece printr-o diviziune mitotică. În urma acestei diviziuni se formează *ovocitele primare* sau *ovocitele de ordinul I* (care sînt tot $2n$). Acestea cresc mult în volum prin acumularea în citoplasmă a unei cantități însemnate de

vitelus (substanță de rezervă în ovul). Apoi, nucleul ovocitei trece prin prima diviziune a meiozei, în urma căreia iau naștere două *ovocite secundare* sau *ovocite de ordinul II*. Acestea sînt haploide, *n*, dar diferă prin cantitatea de citoplasmă. Astfel, o ovocită secundară

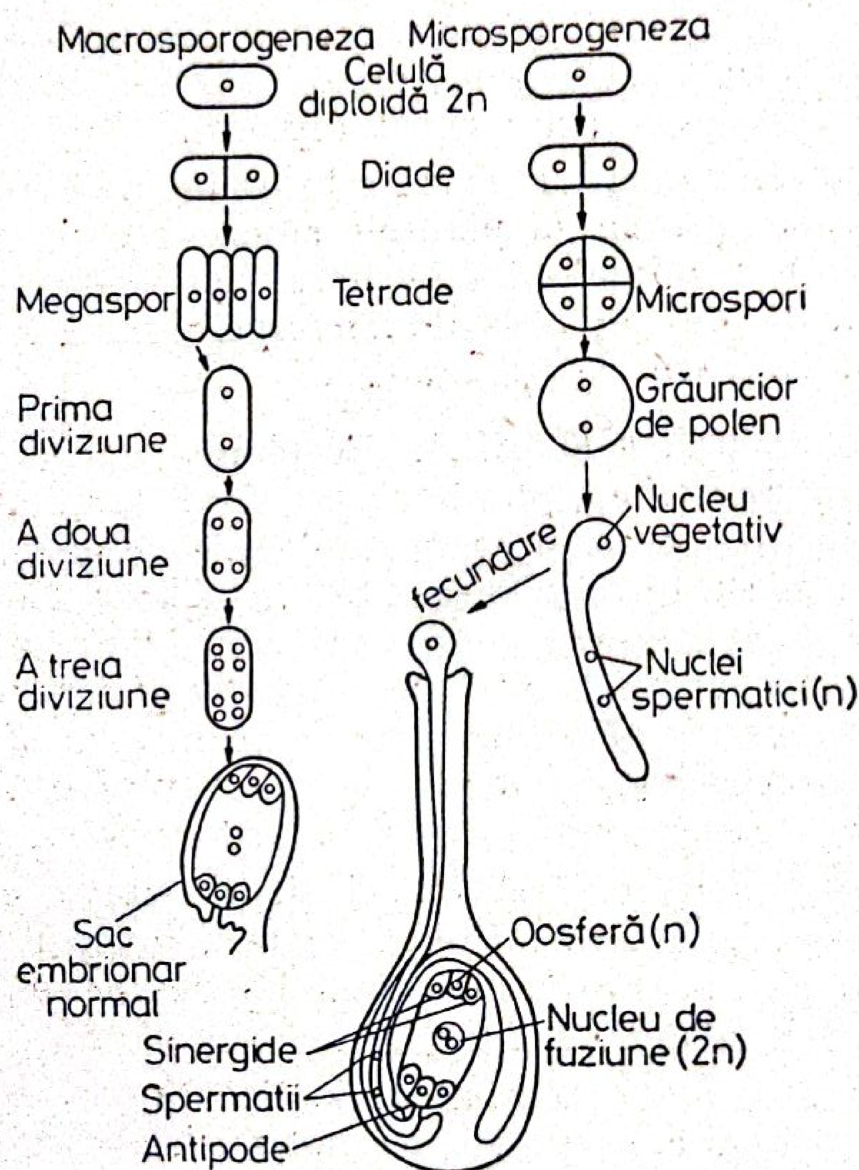


Fig. 4. Sporogeneza și singamia (fecundarea) la plantele cu flori.

este mică (*globul polar*) în timp ce a doua este mare (*ovocita mare II*) deoarece primește practic întreaga cantitate de citoplasmă a celulei-mamă. În ovocita secundară are loc a doua diviziune a meiozei — homotipică, în urma căreia rezultă de asemenea două celule inegale. La fecundare ia parte numai cea care posedă citoplasmă bogată. Acesta este *ovulul*.

MICROSPOROGENEZA. La plante, celulele tetradei reprezintă *microsporii* sau viitorii grăunciori de polen. Pentru maturizare funcţională, fiecare microspor mai suferă încă două diviziuni, *prima*: nucleul se divide formînd un *nucleu generativ* şi un *nucleu vegetativ*; *a doua*: se divide nucleul generativ dînd naştere la doi nuclei, care reprezintă gameţii masculi sau *spermatiile*. Obişnuit, polenul după ce ajunge pe stigmat, germinează, vărsîndu-şi conţinutul în tubul polinic, care pătrunde în ţesuturile stilului (parte a carpelei, situată între ovar şi stigmat).

SPERMATOGENEZA. La animale, formarea gameţilor masculi are loc în testicule, şi anume în *spermatocitele primare* (2*n*). După diviziunea reducţională heterotipică se formează două *spermatocite secundare* (*n*). Din acestea, în urma diviziunii meiotice homotipice se formează patru *spermatide* — care în urma unor transformări ce se petrec în perioada de *spermiogeneză* dau naştere *spermatozoizilor*.

SINGAMIA. Unirea nucleilor gameţilor sau singamia reprezintă o latură a procesului sexual în urma căreia rezultă zigotul 2*n*. La plante, fuziunea nucleilor gameţilor are loc în sacul embrionar, în care o spermatie (*n*) se uneşte cu oosfera (*n*) în urma căreia ia naştere *zigotul* (diploid, 2*n*). Cealaltă spermatie (*n*) se uneşte cu nucleul de fuziune al sacului embrionar (2*n*), dînd naştere *endospermului* (triploid, 3*n*). Participarea la acest proces a celor două spermatii indică fenomenul de *dublă fecundare*.

Singamia propriu-zisă dublează numărul de cromozomi în celulă.

La plantele superioare şi la animale are loc de obicei fuziunea nucleilor celor doi gameţi, în citoplasma maternă. Gametul mascul, în general, nu contribuie decît cu elemente nucleare şi rareori cu citoplasmă.

Procesele care au loc în timpul şi după meioză fac ca la organismele cu reproducere sexuată să aibă loc o alternare între starea haploidă (*n*) şi cea diploidă (2*n*), între *haplofază* şi *diplofază*. Aceste două faze diferă mult de la o grupă de organisme la alta.

TIPURI DE DIVIZIUNE MEIOTICĂ. Alături de desfășurarea normală a diviziunii reducționale, în anumite circumstanțe meioza poate suferi modificări, unele neesențiale, altele esențiale. Ele pot fi induse de factori din mediu, sau se pot datora unor cauze de natură genetică. În funcție de desfășurarea fenomenelor sinaptice și de comportamentul cromozomilor au fost deosebite următoarele tipuri de meioză (*F. Battaglia*, 1955):

— *eumeioza* sau meioza normală în care fenomenele sinaptice se desfășoară normal. Datorită conjugării normale are loc și o segregare corectă — reducțională, a cromozomilor în prima diviziune meiotică. Aceasta se desfășoară după tipul prereducerii;

— *meioza achiasmatică* este caracteristică pentru unul din cele două sexe (sexul heterogametic) al unor unisexuate (de exemplu, la sexul mascul al Drosophilei);

— *pseudomeioza* sau meioza fără sinapsis (în care chiasmele apar foarte timpuriu și dispar în profaza I). Ca urmare, în anafaza I apar doar univalenți în loc de bivalenți, care se divid de fapt mitotic, cei doi nuclei rezultați fiind diploizi (2*n*). A doua diviziune este anormală cînd nu a avut loc replicarea cromatidelor și este de tip mitotic dacă a avut loc replicarea cromatidelor;

— *parameioza* se caracterizează prin asinapsie parțială. Se poate desfășura după tipul prereducerii (reducerea numărului de cromozomi în prima diviziune meiotică) sau după tipul postreducerii (reducerea numărului de cromozomi în a doua diviziune meiotică).

Cînd reproducerea cromozomilor și centromerilor nu are loc, se desfășoară un tip de meioză particulară care se realizează într-o singură diviziune. Meioza de acest tip sau *unistadială*, desfășurată fără realizarea crossing overului, este caracteristică unor protozoare la care posibilitățile evolutive sînt reduse.

La formele cu centromeri nelocalizați, sau difuzi (unele insecte — coccide, aphide, lepidoptere etc., plante — *Luzula*), la care cromatidele sînt structuri

independente, autonome, în anafaza I se deplasează spre poli, două cîte două, cromatide complet separate. Ca urmare, fiecare cromatidă poate fi considerată un cromozom întreg, iar la poli se formează în telofază nuclei cu un număr neredus de cromozomi.

În interfaza dintre cele două diviziuni meiotice apare o reasociere, o împerechere secundară între cromozomii homologi și astfel în metafaza II cromatidele apar în perechi, iar reducerea numărului de cromozomi se realizează în anafaza celei de-a doua diviziuni meiotice.

La aceste forme cu centromeri difuzi, prima diviziune meiotică este deci ecuațională, iar a doua reducțională, deoarece în metafaza I se înregistrează o autoorientare a centromerilor, iar în metafaza II apare coorientarea centromerilor, inversîndu-se astfel secvența normală a meiozei. O astfel de meioză a fost numită *postreducțională*. (*L. Gavrilă, I. Dăbală*, 1975)

La organismele haploide, de exemplu, la masculul albinelor (trîntor, cu $n=16$ cromozomi; albina $2n=32$ cromozomi), obișnuit, în diviziunea heterotipică cromozomii fiind haploizi și univalenți, migrează spre un singur pol, unde se formează un așa-numit *nucleu de restituție*. În diviziunea a II-a a meiozei cromozomii nucleului de restituție se divid dînd naștere la doi nuclei (în loc de patru) haploizi, tot cu $n=16$ cromozomi ca și celula mamă originară.

CROMOZOMII

Pentru fenomenele ereditare, de o deosebită importanță sînt cromozomii.

În concepția clasică, formată în urma stabilirii rolului lor în ereditate, noțiunea de cromozom era privită mai ales din punct de vedere morfologic, prin cromozomi înțelegîndu-se structuri nucleare de formă, mărime și număr caracteristic. Progresele geneticii moleculare au contribuit la lărgirea cunoștințelor despre cromozomi mai ales în privința aspectelor structurale

şi funcţionale. Cromozomii pot fi observaţi cu ajutorul microscopului, în urma colorării specifice, în timpul diviziunii celulare, respectiv a diviziunii nucleului. Ei sînt constituiţi din *cromatină*, care formează o reţea, din care se separă filamente distincte, individuale, denumite *cromoneme*. Aceste filamente sînt precursorii cromozomilor. Cromozomii sînt structuri constituite din ADN, ARN şi proteine histonice specifice şi îndeplinesc acelaşi rol: depozitează în ADN-ul lor informaţia genetică şi o transmit, în condiţii normale, cu o fidelitate uimitoare de-a lungul generaţiilor celulare.

Studiul cromozomilor în timpul diviziunii mitotice, în metafază, a evidenţiat o serie de aspecte privitoare la caracteristicile morfologice şi comportarea cromozomilor. Informaţii valoroase au fost obţinute şi în privinţa structurii şi chimismului lor.

MORFOLOGIA CROMOZOMILOR

Caracterele esenţiale, generale, ale complexului cromozomal sînt asemănătoare la marea majoritate a organismelor care au nucleu. Noţiunea de *cariotip* indică aspectele morfologice ale cromozomilor unui individ sau specie, în metafază: numărul, forma şi mărimea cromozomilor.

NUMĂRUL CROMOZOMILOR constituie una din principalele caracteristici ale cariotipului. Fiecare specie de plante sau animale este caracterizată printr-un anumit număr de cromozomi.

Numărul *gametic* sau *haploid* de cromozomi a fost simbolizat n, iar numărul *zigotic* sau *diploid* de cromozomi (din celula corporală sau somatică) rezultat în urma fecundării a fost simbolizat $2n$.

Numărul haploid de cromozomi al speciilor diploide strămoşeşti sau ancestrale a căpătat denumirea de *număr de bază*, *genom* sau număr *monoploid* şi se notează cu x. De exemplu, speciile din genul *Triticum* au numărul de bază de cromozomi $x=7$, iar speciile care

fac parte din acest gen sînt caracterizate printr-un număr de cromozomi ce reprezintă multiplul numărului de bază ($2n=2x=14$, $2n=4x=28$ și $2n=6x=42$). Speciile care posedă mai mult decît două numere de bază de cromozomi sînt *poliploide* (*triploide*, $3x$, *tetraploide*, $4x$, *pentaploide*, $5x$ etc.).

În prezent se cunoaște numărul caracteristic de cromozomi la multe mii de specii de plante și animale.

În lumea vie numărul de cromozomi este foarte variabil. Astfel, la bacterii, informația genetică este cuprinsă într-un singur cromozom; la *Ascaris megalocephala* var. *univalens*, $2n=2$ cromozomi, iar la radiolarul *Aulacantha*, $2n=$aproximativ 1 600 cromozomi.

În general, numărul de cromozomi este stabil și caracteristic pentru celulele fiecărei specii. Stabilitatea numărului de cromozomi, ca un fapt pe deplin dovedit, nu exclude cu totul posibilitatea schimbării numărului de cromozomi.

FORMA CROMOZOMILOR constituie de asemenea o caracteristică de gen și specie. Cromozomii pot fi în formă de I, V, U, L etc., cu brațe egale sau neegale. Forma lor variază de la o specie la alta și este constantă pentru aceeași specie.

În același nucleu, forma se deosebește de la un cromozom la altul, ceea ce face ca aceștia să se diferențieze între ei. Avînd forme și dimensiuni proprii, cromozomii diferitelor specii se pot deosebi mult unul de altul, fapt ce permite individualizarea fiecăruia din complexul cromozomal.

MĂRIMEA CROMOZOMILOR în metafază este o proprietate constantă a cromozomilor, aparținînd diverselor specii.

Lungimea cromozomilor poate varia între limite largi. Astfel, cromozomii mici — *microcromozomii*, de aproximativ 1 micron, se întîlnesc la unele grupe inferioare de organisme și la unele păsări, iar cei mari — *macrocromozomi*, între 5—30 microni, pot fi întîlniți mai frecvent; de exemplu, la porumb, lungimea cromozomilor în metafaza somatică este de 8—10 microni,

la tutun de 3—5 microni, la ceapă și crin între 10—20 microni ș.a.m.d.

Unii cromozomi au dimensiuni foarte mari, de exemplu, așa-numiții *cromozomi uriași*. Acest tip de cromozomi poate fi observat în nucleii din celulele glandelor salivare ale larvelor musculiței de oțet (*Drosophila melanogaster*) și au o lungime totală de 1 180—2 000 microni.

Cromozomii pot suferi variații prin pierderea unor segmente, prin cedarea urmată de primirea unor segmente etc.

Datorită caracteristicilor lor, fiecare cromozom poate fi identificat, recunoscut în toate celulele indivizilor din aceeași specie.

Pe baza pronunțatei stabilități a caracteristicilor individuale, cromozomii în funcție de anumite criterii au fost simbolizați fie cu cifre (1, 2, 3 sau I, II, III . . .), fie cu litere (A, B, C . . .).

DISPUNEREA ÎN PERECHI A CROMOZOMILOR. În celulele somatice cromozomii formează perechi, doi cîte doi (homologi). Aceasta rezultă din faptul că celula-ou a organismului (zigotul) este produsul contopirii a doi gameți, care aduc fiecare cîte un complex cromozomic similar, haploid. Excepție parțială (la unul dintre sexe, la așa-numitul sex heterogametic) constituie o pereche de cromozomi, *cromozomii sexului* sau *heterocromozomii* (*heterozomi*), care determină sexul la animalele și plantele cu sexele separate. Restul cromozomilor din complementul cromozomal și care formează perechi identice la ambele sexe se numesc *autozomi*.

Dispunerea cromozomilor în perechi poate fi evidențiată prin studiul complexului cromozomal la diverse specii de plante și animale. La musculița de oțet (*Drosophila melanogaster*, $2n=8$ cromozomi), două perechi sînt formate din cromozomi mari în formă de V (perechea II și III), o pereche este formată din cromozomi mici și sferici (perechea IV), iar o pereche de cromozomi în formă de bastonașe — la indivizii de sex femel (♀) reprezintă cromozomii X (perechea I). La indivizii

de sex mascul (♂), această ultimă pereche este alcătuită dintr-un cromozom în formă de bastonaș, iar altul în formă de V, cu un braț scurt (cromozomul Y).

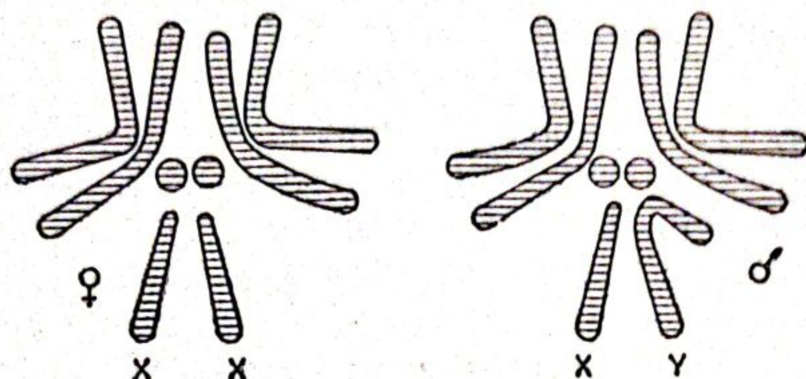


Fig. 5. Cariotipul și dispunerea în perechi a cromozomilor la *Drosophila melanogaster* (♀ sex femel, ♂ sex mascul).

Aceștia sînt cromozomii sexului sau heterozomii. La Drosophila, la om etc., ei sînt simbolic notați XX la sexul femel și XY la sexul mascul (fig. 5).

STRUCTURA CROMOZOMILOR

Cercetările au relevat o serie de aspecte din topografia cromozomilor. Acestea sînt evidente în profază și metafază.

De-a lungul lor, cromozomii sînt diferențiați calitativ. Astfel, cromozomii au anumite porțiuni distincte, cu aspecte de granule, numite *cromomere*. Ele au o mărime caracteristică și o aranjare lineară în cromozomi. Cromomerele sînt vizibile în profaza meiozei, între stadiile de leptonem și pachinem la cromozomii glandelor salivare ale unor insecte (*Diptere*). Cromozomii homologi manifestă corespondență în privința mărimii și succesiunii cromomerelor.

În metafază, cromozomii au cea mai compactă și mai condensată structură. La sfîrșitul metafazei, cele două cromatide ale fiecărui cromozom sînt unite într-un singur punct numit *constricție primară* sau *centrică* în

care este localizat *centromerul* (*kinetocorul* care controlează activitatea cromozomului). În rest, cromatidele sînt libere, iar dacă cromozomul este lung, cele două cromatide surori pot fi reciproc încolăcite. Totodată centromerul reprezintă o structură specială a cromozomului cu ajutorul căreia acesta se atașează de fibrele fusului de diviziune pentru a migra spre poli.

Cromozomii fără centromer (cromozomi *acentrici*) nu se pot orienta spre polii celulei și în cele din urmă dispar. Unii cromozomi datorită unor anomalii structurale, pot avea doi centromeri (cromozomi *dicentrici*). Alții pot avea mai mulți centromeri funcționali (cromozomi *policentrici*). Există și organisme la care cromozomii nu prezintă un centromer precis localizat, ci unul *difuz*.

În funcție de poziția centromerului se pot deosebi mai multe tipuri morfologice de cromozomi. Astfel, centromerul poate determina formarea a două brațe cromozomale egale sau inegale. Cînd centromerul este plasat în regiunea mediană sau chiar pe punctul median, cromozomul prezintă două brațe egale și se numește *metacentric*. Cromozomii la care centromerul este aproape terminal sau terminal sînt cromozomi *telocentrici*. Adeseori însă centromerul este situat submedian (cromozomi *submetacentrici*) sau subterminal (*subtelocentrici*) (fig. 6).

Alături de constricția primară sau centromerică, unii cromozomi mai pot prezenta de-a lungul lor încă o gîtuitură care a fost numită *constricție secundară* sau *nucleolară*. Strangulația secundară se datorează prezenței în acest loc, în profază, a nucleolului, care inhibă spiralizarea cromozomului. Segmentul de cromozom separat prin constricția secundară este denumit *satelit*. Numărul de sateliți prezent într-un set haploid de cromozomi este un indiciu al numărului de nucleoli. De exemplu, porumbul are un satelit (în cromozomul 6), în timp ce omul are 5.

Aprecierea cu exactitate a morfologiei și structurii cromozomilor prezintă o mare importanță în alcătuirea cariotipului. Abaterile survenite în aspectul cariotipului reflectă schimbările ce apar la nivelul cromo-

zomilor, al materialului genetic. Din această cauză, studiul morfologiei și structurii cromozomilor capătă un deosebit interes teoretic și practic. Pe această cale

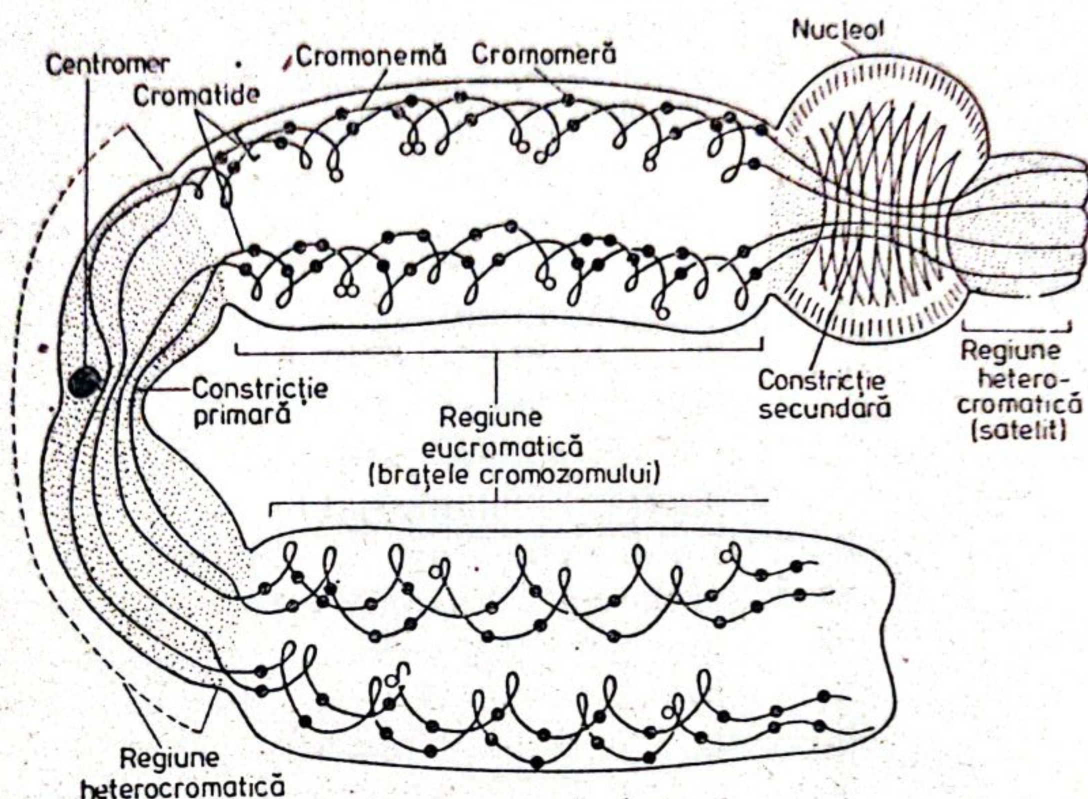


Fig. 6. Schema structurii cromozomului în metafază la microscopul fotonic (adaptare după *J. Finean* și *M. Ionescu-Varo*, 1976).

se poate stabili gradul de înrudire dintre diferite speci și căile evoluției lor și de asemenea se pot evidenția schimbările apărute în structura și mărimea cromozomilor, care reprezintă uneori adaptări genotipice cu efecte pozitive asupra fenotipului, iar alteori determină efecte letale sau dăunătoare.

Cromozomii au fost intens studiați, ceea ce a permis acumularea unor date care au dus la formularea unor concepții despre structura cromozomului. O primă constatare a fost aceea că ei au o *structură lineară*. Această particularitate conferă cromozomilor forma unui filament cilindric, sau mai bine zis forma a două filamente fiice — *cromatidele*, deoarece reproducerea cromozomilor duce la dublarea (scindarea) lor în faza timpurie a diviziunii celulare. Dacă orice cromozom

este alcătuit din două cromatide, fiecare cromatidă este compusă la rîndul ei din două subunități denumite *cromoneme*. Structura dublă a cromozomilor asigură în timpul diviziunii mitotice o repartiție perfectă a elementelor nucleare între cei doi nuclei-fii.



Fig. 7. Model ipotetic de structură multicatenară a cromozomului.

Microscopul electronic a evidențiat la nivelul cromozomilor existența unor fibrile elementare spiralizate de două tipuri: unele cu diametrul de 80—100 Å (așa-numite *fibre A*), altele cu diametrul de 200—500 Å (*fibre B*, puternic spiralizate) alcătuite din nucleohistone. Prin asocierea mai multor asemenea fibrile elementare se formează cromonema. Fibrila elementară sau microfibrila se numește și *subcromonemă*. În metafază cromonemele suferă o dublă spiralizare: o *spiralizare minoră* și o *spiralizare somatică* care determină scurtarea și îngroșarea cromozomilor.

Cercetări recente sugerează faptul că structura cromatidei nu este monofibrilară, ci multifibrilară (fibrile fine cu diametrul de circa 40 Å — angstromi). Acestea sînt considerate ca reprezentînd unitățile de bază ale cromozomului (fig. 7).

E. du Praw, în 1970, a emis ipoteza *fibrei cutate* (*pliate*), potrivit căreia la nivelul cromatidei cromozomului se află un singur helix dublu foarte lung de ADN pliat transversal, longitudinal sau combinat, din al cărei model de pliere datorită superrăsucirii derivă toate tipurile morfologice de cromozomi. *Du Praw* arată, de exemplu, că prin suprarăsucirea fibrei de cromatină cromozomală reprezentată de un singur helix dublu de ADN cu un diametru de 20 Å, lung de 56 μ, după o primă răsucire rezultă o fibră cu un diametru de 80—100 Å, lungă de 7—8 μ, iar după o a doua răsucire se formează o fibră cu diametrul de 230 Å,

lungă de 1 μ. Rata plierii în interfază este 56 : 1, iar în metafază este de 100 : 1.

Tot prin microscopie electronică s-a putut demonstra și faptul că cromomerele reprezintă puncte în care cromonemele sînt dens spiralate. După unii cercetători, cromonemele reprezintă o aglomerare de elemente fibrilare.

EUCROMATINA ȘI HETEROCROMATINA

Materialul genetic localizat la nivelul cromozomilor se numește *cromatină* și este format dintr-un complex nucleoproteic în care intră ADN și proteine bazice — histone cu pH=8 și mai mare (proteine care conțin peste 22% aminoacizi bazici cum sînt arginină, lizină ș.a.).

Cromatina mai conține și cantități variabile de ARN (C—ARN sau acid ribonucleic cromozomal), lipide și metale (calciu, magneziu, fier). Cantitatea de ADN din cromozomi crește începînd de la bacterii pînă la mamifere și om.

Cromatina este alcătuită din două tipuri de substanțe, diferențiate din punct de vedere funcțional și mai puțin din punct de vedere al structurii. Cele două tipuri de cromatină se numesc *eucromatină* și *heterocromatină*.

Eucromatina se colorează doar în timpul diviziunii nucleare, pe cînd heterocromatina se colorează de-a lungul întregului ciclu celular, inclusiv în interfază. De asemenea, heterocromatina se sintetizează de regulă mai tîrziu decît eucromatina. Heterocromatina poate fi de două feluri: *constitutivă* (prezentă în aceeași poziție în cei doi cromozomi homologi ai fiecărei perechi) și *facultativă* (ce rezultă obișnuit din inactivarea unuia din cei doi cromozomi X, care la femelele mamiferelor determină formarea *cromatinei sexuale*).

În regiunile heterocromatice constitutive există ADN repetitiv, adică secvența de perechi de nucleotizi (unitate a moleculei de ADN și ARN, alcătuită dintr-o

bază azotată, o pentoză și un radical fosforic) repetați de mai multe ori. *Heterocromatina constitutivă* este localizată preferențial în jurul centromerilor (în poziții variabile de la o specie la alta) și al organizatorilor nucleolari. Regiunile heterocromatice concentrate în apropierea centromerului ce sînt vizibile în interfază formează *cromocentre*, cu ajutorul cărora se poate determina, uneori, chiar în interfază, numărul de cromozomi din complementul diploid (vezi fig. 9). Deci, cromocentrele constau din heterocromatină și sînt *heteropicnotice pozitive* (cromozomi sau segmente cromozomale puternic spiralizate în interfază spre deosebire de starea de *izopicnoză* caracteristică cromozomilor sau segmentelor eucromatice, care în interfază este despiralizată iar în timpul diviziunii spiralizată).

În general, heterocromatina nu are efecte vizibile asupra viabilității sau expresiei genetice. Funcțiile genetice controlate de heterocromatină sînt mult reduse comparativ cu cele ale eucromatinei.

Heterocromatina apare sub forma unor benzi transversale de-a lungul cromozomilor. Prin evidențierea benzilor de heterocromatină prin utilizarea metodelor de bandare a cromozomilor se pot remarca restructurările cromozomale care apar în cursul evoluției speciilor și care au dus la diversificarea acestora. Cantitatea și modul de distribuire a benzilor heterocromatice constitutive sînt caracteristice fiecărei specii.

TIPURI SPECIALE DE CROMOZOMI

Alături de tipul obișnuit sau normal de cromozomi (așa-numiții *cromozomi A*) studiile au evidențiat și unele tipuri speciale de cromozomi. Așa sînt, de exemplu, cromozomii *perie de lampă* („lampbrush chromosome"). Asemenea cromozomi bivalenți, foarte mari, se găsesc în nucleii oocitelor primare ale unor nevertebrate și vertebrate (pești, amfibieni, reptile, păsări etc.) și în nucleii spermatocitelor la *D. melanogaster*. Ei prezintă o axă principală reprezentată de cele două cro-

matide şi bucle laterale perechi, sugerînd numele de perie de lampă. Acest tip de cromozom rezultă în urma unei alungiri exagerate a cromonemelor la nivelul cromomerelor, determinată de prelungirea stadiului de di-

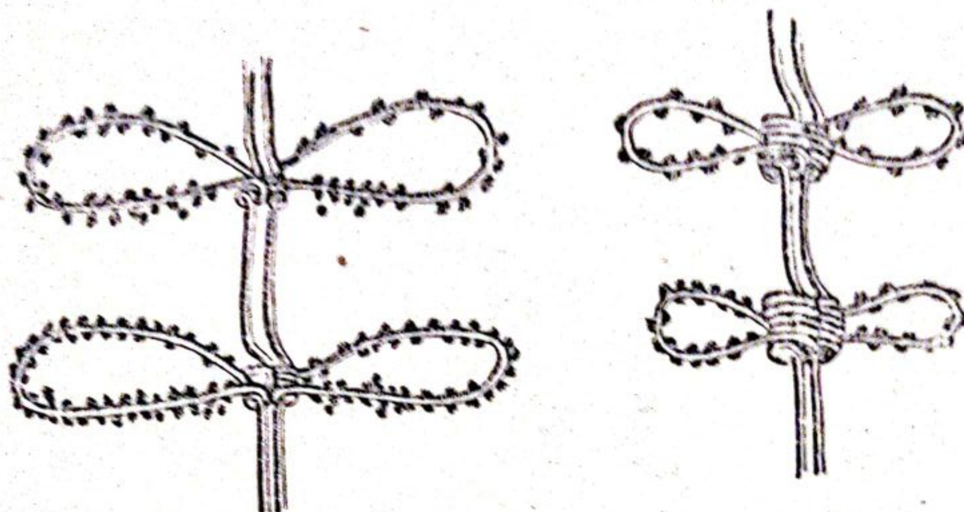


Fig. 8. Segmente de cromozomi perie de lampă *(lampbrush)* din oocitele primare şi spermatocitele unor organisme. Buclele rezultă din extinderea laterală faţă de axa cromozomului a cromonemelor la nivelul cromomerelor. Pe bucle se găsesc numeroase particule de ARN şi proteine bazice cu rolul de a intensifica activităţile cromozomale.

plonem din profaza I a meiozei. Fiecare buclă sau pereche de bucle se pot identifica pe baza caracterelor lor (fig. 8).

Cromozomii perie de lampă pot avea dimensiuni chiar mai mari decît „cromozomii uriaşi" de la diptere. Astfel, la o specie de triton s-au evidenţiat cromozomi „perie de lampă" în timpul profazei I în ovocite. Ei pot atinge lungimea de 800 microni (şi chiar 1 mm). După stadiul de diplonem, buclele descresc, astfel că în preajma metafazei I a meiozei dispar, iar cromozomii capătă treptat structura cromozomilor obişnuiţi.

În celulele glandelor salivare ale larvelor de diptere, cromozomii au dimensiuni mult mai mari comparativ cu cei din alte celule somatice. Fiind cei mai mari cromozomi descoperiţi (de către *Balbiani*, în 1881) au fost denumiţi *cromozomi uriaşi* sau *politeni*.

La *D. melanogaster*, în ultima parte a stadiului larvar în metafază, cromozomii sînt mult îngroșați datorită multiplicării cromonemelor și depășesc în lungime de circa 100 ori cromozomii din alte celule

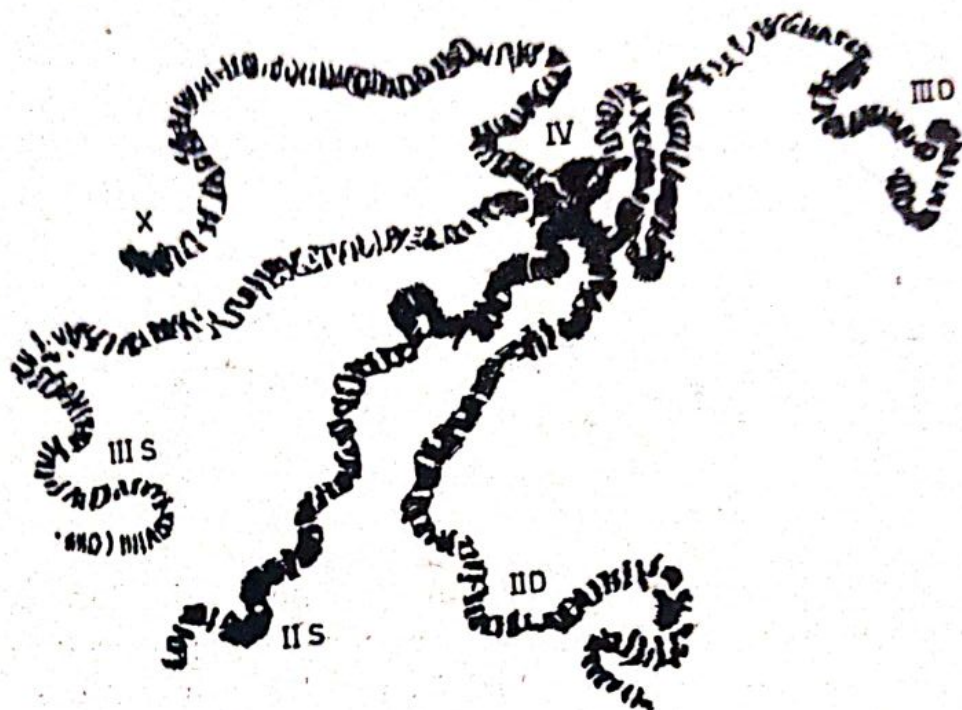


Fig. 9. Cromozomi uriași din glandele salivare ale unei larve de *Drosophila melanogaster* (X — cromozomul X; II D și II S — brațele dreapta (D) și stînga (S) — ale cromozomului II; III D și III S — brațele cromozomului III). Brațele cromozomilor sînt unite la nivelul unui cromocentru.

somatice, atingînd o lungime totală de 1 180—2 000 microni. De exemplu, perechea a II-a de cromozomi de la Drosophila ajunge la lungimea de 450 μ și la grosimea de 5μ, fiind alcătuită din 3 200 de cromoneme (fig. 9).

Cromozomii uriași sînt constituiți din mai multe cromoneme care apar prin cicluri repetate de endoreduplicare a cromatidelor inițiale fără separarea ior. În procesul de politenizare, concomitent cu endoreduplicarea cromatidelor are loc o dezvoltare individuală a cromomerelor (printr-o mărire, duplicare și agregare a cromomerelor homologe) care apar asemenea unor benzi transversale alternative, denumite *discurile lui Balbiani*. Din cauză că firele cromatidice nu se mai

separă și nu mai evoluează spre cromozomii-fii, așa cum se întîmplă în celelalte celule ale corpului larvei, face ca acești cromozomi uriași, cu toate că se găsesc în mitoză, să se comporte ca în meioză, manifestînd un tip de sinapsă (ca în stadiul de pachinem, profaza I) însă o sinapsă somatică. Faptul că cei doi membri ai cromozomului homolog se apropie strîns unul de celălalt, dă impresia că nucleul are un număr haploid de cromozomi. În urma fenomenului de politenie, cantitatea de material genetic din cromozomi crește foarte mult. Astfel, dacă într-un cromozom obișnuit se găsesc două cromatide, cromozomul uriaș poate ajunge în cazuri extreme la un număr uriaș de fibrile. De exemplu, s-a estimat că la *Chironomus*, un cromozom politen este alcătuit din asocierea a 32 000 cromoneme.

Cercetarea la microscop a cromozomilor uriași din celulele glandelor salivare ale larvelor de *Drosophila melanogaster* a relevat o alternanță regulată de benzi sau discuri mai întunecoase și interbenzi mai luminoase. La Drosophila sînt circa 5 000 de asemenea benzi dispuse transversal față de lungimea cromozomilor uriași. Numai în cromozomul X au fost identificate 1 021 benzi (în care a fost relevată prezența a 1 000 de gene). Benzile transversale sînt bogate în ADN, iar interbenzile sînt sărace în ADN.

Repartiția benzilor pe brațele cromozomilor uriași prezintă o constanță excepțională. Aceste benzi fiind specifice ca poziție și grosime (ca de altfel și interbenzile) permit recunoașterea diferitelor schimbări chiar și a celor mai mici care apar în structura cromozomilor. În același timp faptul că poziția cromomerelor este caracteristică pentru diverși cromozomi, a făcut ca acestea să fie utilizate pentru identificarea cromozomilor individuali ca și pentru construcția unor hărți cromozomale detaliate.

Cercetări efectuate cu timidină tritiată (3H — timidină) a relevat faptul că procesul de replicare a cromozomilor începe simultan în cromomere și intercromomere. S-a stabilit că replicarea se termină mai tîrziu în cromomerele mai groase, iar zonele centrome-

rice încheie ultimele replicarea. Pe baza acestor observaţii s-a tras concluzia că cromomerele sînt unităţi de replicare sau *repliconi* pentru organismele eucariote.

La unele benzi specifice sau *loci* specifici (*locus* — poziţia ocupată de o genă), cromozomul uriaş prezintă o structură difuză, de unde pornesc un fel de funde, ce conferă zonei respective aspectul unei umflături de jur-împrejurul cromozomului. Asemenea structuri au fost numite *puff* sau *puffing* (cele mai mari se numesc *inelele lui Balbiani*). Un puff are un număr de bucle egal cu numărul cromonemelor conţinute de cromozomul politenic.

La nivelul puffurilor se desfăşoară o intensă sinteză de ADN şi ARN şi de transfer a informaţiei (a transcripţiei genetice). Totodată s-a stabilit că ADN din puffuri îndeplineşte şi rolul de reglare a transferului informaţiei în timpul diferenţierii celulare la eucariote. După cum s-a arătat în puffuri sînt implicate numeroase fibre cromatidice spre deosebire de buclele cromozomilor perie de lampă care sînt formate fiecare dintr-o singură fibră cromatidică.

Prezenţa cromozomilor uriaşi în celulele glandelor salivare este legată de funcţia secretorie a acestora într-un anumit stadiu al vieţii larvare.

CROMOZOMII ACCESORII SAU CROMOZOMII B. Aceşti cromozomi descoperiţi la o serie de specii de plante şi animale sînt în plus faţă de numărul normal de cromozomi obişnuiţi notaţi cu A. Cromozomii accesorii sînt notaţi cu B. Ei au o morfologie caracteristică, fiind acrocentrici sau telocentrici şi pentru faptul că spre deosebire de cromozomii A se pot colora şi în interfază, sînt consideraţi a fi heterocromatici. Spre deosebire de cromozomii A densitatea ADN în cromozomii B este mai mare. Dacă cromozomii accesorii depăşesc ca număr o anumită limită, ei afectează vitalitatea şi fertilitatea organismelor. În general, originea şi funcţia cromozomilor accesorii nu e bine cunoscută. Cromozomi B au fost descoperiţi la secară, porumb, păsări ş.a.

GENA — STRUCTURĂ ȘI FUNCȚII

Unitatea elementară a eredității este *gena*. Ea reprezintă o particulă materială diferențiată în materialul genetic care controlează sau condiționează manifestarea uneia sau mai multor caracteristici ereditare ale unui organism. Gena este formată dintr-un acid nucleic și anume *acid dezoxiribonucleic*-ADN pentru marea majoritate a organismelor și *acid ribonucleic*-ARN pentru unii viruși.

Pentru a indica particulele eredității, fondatorul geneticii, *Gregor Mendel*, în 1865, a folosit noțiunea de *factor ereditar*, denumit ulterior genă. Potrivit concepției lui Mendel, factorii ereditari se află sub formă de pereche în celulele obișnuite ale organismului și sub formă singulară în gameți.

Noțiunea de genă a fost propusă de *W. L. Johannsen*, în 1909.

Prin cercetările lor, *T. H. Morgan* și colaboratorii săi, după anul 1910, au stabilit că genele sînt particule materiale, localizate în cromozomi, de-a lungul cărora sînt aranjate liniar, asemănător unor mărgele într-un șirag. Poziția ocupată de genă în cromozom se numește *locus*. Ca urmare a mutației (o schimbare bruscă în structura submicroscopică a genei), o genă poate prezenta mai multe variante, denumite *alele*, din care numai cîte una singură există în fiecare cromozom. Rezultă că în organismele diploide pentru fiecare caracteristică există două gene alele, în timp ce în organismele haploide există o singură genă alelă.

Alelele se unesc prin fecundare (în zigot, cu structura $2n$) și se separă sau segregă prin diviziune reducțională (în gameți, n).

Gena se autoreproduce exact multe generații celulare.

În concepția clasică gena reprezintă în același timp o unitate de: *funcțiune* (ea determină caracteristicile ereditare), *de mutație* (structura chimică a genei se schimbă prin mutație, care determină formarea alelelor

mutante; alela normală, tipul original sau sălbatic, se notează cu simbolul +) şi de *recombinare* (prin crossing over, proces care constă într-un schimb mutual de segmente cromatidice sau blocuri de gene corespunzătoare între cromatidele ne-surori ale cromozomilor homologi). Ulterior, în special cercetările efectuate după anul 1950, au relevat cazuri în care diverşi loci sau gene se comportă ca şi cînd sînt complecşi şi compuşi din *subloci* sau *subgene*, separabili prin crossing over intragenic.

În anul 1941, concepţia despre genă s-a completat cu ipoteza o *genă — o enzimă*, formulată de *G. W. Beadle* şi *F. L. Tatum*, potrivit căreia fiecare genă controlează sinteza, funcţia şi specificitatea unei enzime. Dacă gena suferă o mutaţie, sinteza enzimei respective nu mai are loc sau este sintetizată o enzimă modificată.

Cercetările ulterioare de biochimie au demonstrat că enzimele reprezintă adesea proteine complexe, formate din mai multe lanţuri polipeptidice diferite, a căror sinteză este controlată genetic independent.

Descoperirea după anul 1944 a faptului că genele sînt molecule complexe constituite din acizi nucleici — ADN şi ARN, care reprezintă materialul genetic — a determinat o schimbare a vechii reprezentări a genei. S-a stabilit astfel că gena corespunde unui segment din macromolecula de ADN sau ARN, format dintr-o secvenţă liniară de nucleotizi, în care este înscris un *mesaj chimic* sau *informaţia ereditară* care începe şi sfîrşeşte cu semne speciale de „punctuaţie".

Informaţia genetică se transmite de la o celulă la alta prin sinteza semiconservativă a ADN, iar transformarea secvenţei de nucleotizi în secvenţă proteică se realizează prin intermediul unui „cod". Prin cod se înţelege un sistem care include procesul *transcripţiei*, adică copierea informaţiei genetice de pe ADN de către *ARN mesager* şi procesul *translaţiei*, adică trecerea informaţiei genetice purtată de ARN mesager în citoplasmă, la nivelul ribozomilor, unde are loc polimerizarea programată a aminoacizilor în procesul de sinteză a proteinelor specifice. Astfel, secvenţa

nucleotizilor în ADN determină secvenţa aminoacizilor în lanţul polipeptidic; deci între molecula de ADN şi molecula proteică există o colinearitate. Înseamnă că unei schimbări (prin mutaţie) în secvenţa nucleotizilor îi corespunde o schimbare a secvenţei aminoacizilor în proteina biosintetizată.

Cercetările au stabilit că secvenţe scurte, specifice de nucleotizi din genă, controlează, în parte, fiecare aminoacid.

În anul 1957 au fost stabilite noi însuşiri ale genei. Astfel, *S. Benzer*, efectuînd cercetări pe bacteriofagul T4, a demonstrat că în cromozomul acestuia, în regiunea r II, ocupată de două gene, există de fapt mai multe regiuni mutabile, pe care le-a numit *mutoni*. În acelaşi timp aceste regiuni mutabile (*unităţi de mutaţie*) pot funcţiona şi ca unităţi de recombinare genetică (*reconi*).

Segmentul de acid nucleic care funcţionează unitar, ca o genă, este numit *cistron*. Aşadar, gena sau cistronul reprezintă o catenă polinucleotidică. *În concluzie, gena este o regiune discretă din cromozom care funcţionează ca unitate ce controlează sinteze specifice de proteine şi prezintă subdiviziuni de mutaţie şi de recombinare genetică prin care se asigură fenomenul de mutaţie şi recombinare intragenică.*

Dimensiunea genei variază în funcţie de mărimea informaţiei genetice pe care o poartă. Gena funcţionează ca un întreg în determinarea sintezei unui anumit lanţ polipeptidic.

Datorită marelui număr de perechi de nucleotizi pe care le poate cuprinde o genă complexă, ea este divizată într-un număr mare de subunităţi de mutaţie şi recombinare, căci unitatea de recombinare şi mutaţie este perechea de nucleotizi.

Descoperirea rolului genetic al acizilor nucleici şi în special a faptului că ADN constituie o parte însemnată şi constantă din cromozom a determinat pe genetişti să afirme că ADN îndeplineşte rolul genelor.

ACIDUL DEZOXIRIBONUCLEIC (ADN)

Acidul dezoxiribonucleic (ADN) este o macromoleculă formată din nucleotizi (dezoxiribonucleotizi). Fiecare nucleotid este alcătuit din trei componente: un radical fosforic monoacid (PO_4H^{--}), un monozaharid (o pentoză —β—D—2—dezoxiribofuranoză) și o bază azotată (din cele patru care intră în compoziția ADN-ului).

Bazele azotate care intră în compoziția ADN la toate viețuitoarele sînt de două feluri: *purinice* și *pirimidinice*. Purinele sînt *adenina* (A) și *guanina* (G), iar pirimidinele sînt *timina* (T) și *citozina* (C) (fig. 10).

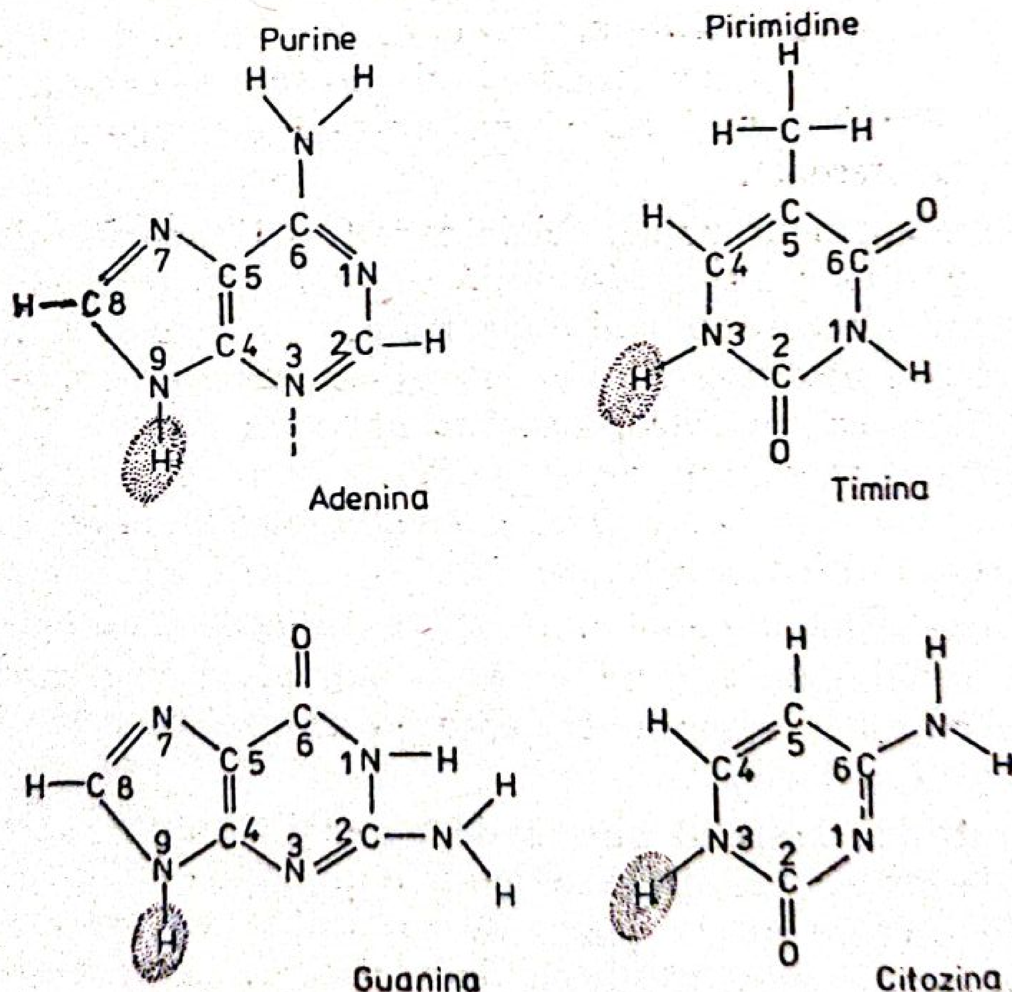


Fig. 10. Structura chimică a principalelor baze azotate care intră în structura moleculei acidului dezoxiribonucleic (ADN).

Combinația dintre o bază și o pentoză se numește *dezoxiribonucleozid*, iar din combinarea dezoxiribonucleozidului cu radicalul fosforic rezultă *dezoxiribonu-*

cleotidul. Legătura dintre pentoză și una din bazele azotate este N-glucidică. La dezoxiribonucleozidele purinice legătura N-glucidică se formează între poziția N_9 a heterociclului dublu purinic și poziția C_1 a pentozei, iar la nucleozidele pirimidinice legătura se

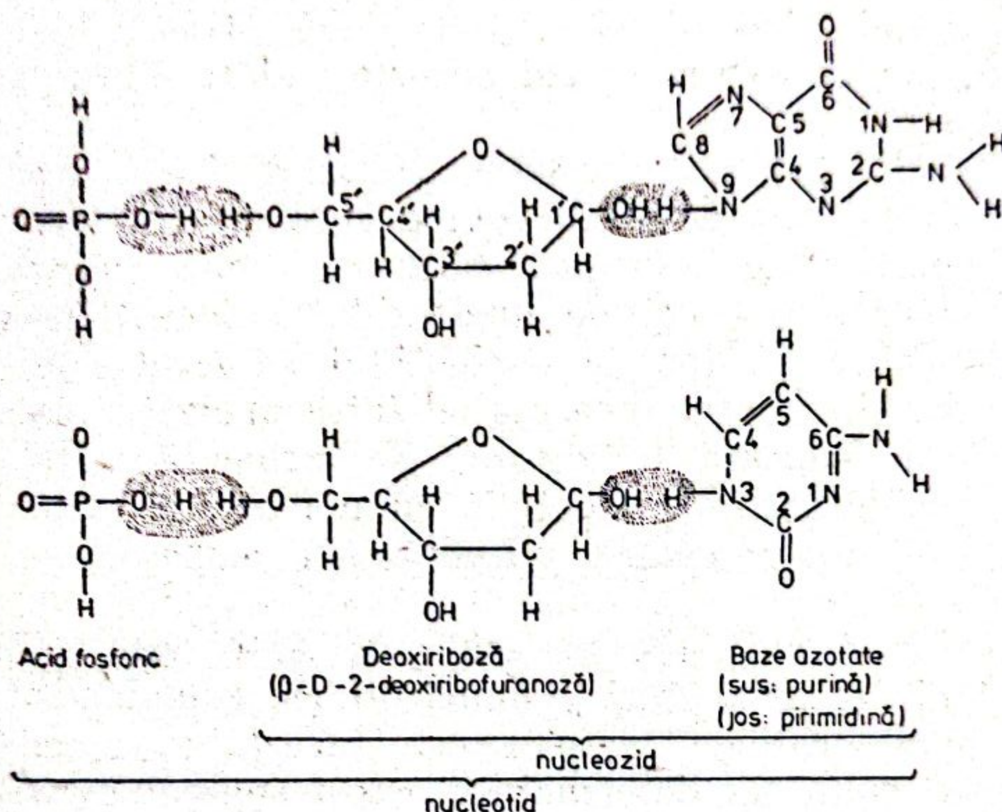


Fig. 11. Structura dezoxiribonucleotizilor și modul de asociere a componentelor acestora (o bază azotată purinică sau pirimidinică, dezoxiriboza și radicalul fosforic).

realizează între poziția N_3 a nucleului pirimidinic și poziția C_1 a pentozei. Adiționarea radicalului fosforic se realizează, obișnuit, prin intermediul poziției 5′ a nucleozidului (respectiv a dezoxiribozei). Astfel, rezultă nucleotizii care sînt esteri ai acidului fosforic cu nucleozidele. Atît conectarea bazei cu pentoza, cît și a nucleozidului cu acidul fosforic se realizează prin pierderea unei molecule de apă (fig. 11).

Fiecare radical fosforic al unui nucleotid poate, prin grupările acid libere, să se lege fie cu un radical fosforic, fie cu un alt nucleotid prin poziția 3′ a dezoxinucleotidului.

În primul caz, dezoxinucleotizii pot apărea sub formă de monofosfat, difosfat sau trifosfat. În funcție de numărul grupelor fosfat și de baza din constituția nucleotidului, dezoxinucleotizii monofosfat se numesc: adenozin 5′-fosfat (AMP), guanozin 5′-fosfat (GMP), citidin 5′ fosfat (CMP) și timidin 5′ fosfat (TMP); dezoxinucleotizii difosfați sînt: ADP, GDP, CDP și TDP, iar dezoxinucleotizii trifosfați sînt: ATP, GTP, CTP și TTP.

În al doilea caz, dezoxinucleotizii se leagă unul de altul prin legături fosfodiesterice în felul următor: primul nucleotid, prin grupul fosfat la nivelul unei grupări acid libere, se leagă de nucleotidul adiacent inferior prin poziția 3′, iar de nucleotidul adiacent superior prin poziția 5′ etc. În acest fel între nucleotizi se stabilește o legătură în zig-zag. Se formează astfel un lanț polidezoxiribonucleotidic cu o lungime variabilă. Aceasta este *structura primară* sau *monocatenară* a ADN.

În mod obișnuit, molecula de ADN este constituită din două lanțuri polinucleotidice complementare sau două catene: aceasta este *structura secundară*. Tocmai acest tip de structură a fost sugerat de *J. D. Watson* și *F. H. C. Crick*, în 1953, care au presupus că molecula de ADN este constituită din două catene formînd un *helix* (*spiral*) *dublu*, răsucite una în jurul celeilalte. Legătura dintre cele două catene complementare se realizează prin punți de hidrogen între perechi de baze situate la același nivel în cele două catene: *două* punți de hidrogen între adenină (amino: NH_2) și timină (keto: C=O) și *trei* punți între guanină (keto) și citozină (amino). Deci între cele două catene paralele ale macromoleculei de ADN există doar următoarele 4 tipuri de legături:

Adenină = Timină
Timină = Adenină
Guanină ≡ Citozină
Citozină ≡ Guanină.

Rezultă că cele două catene polinucleotidice ale ADN sînt complementare, deoarece de ordinea în

care se succed nucleotizii într-o catenă depinde ordinea nucleotizilor în cealaltă catenă. Legăturile duble sau triple de hidrogen dintre bazele azotate complementare asigură o bună coeziune între cele două catene ale moleculei de ADN (fig. 12).

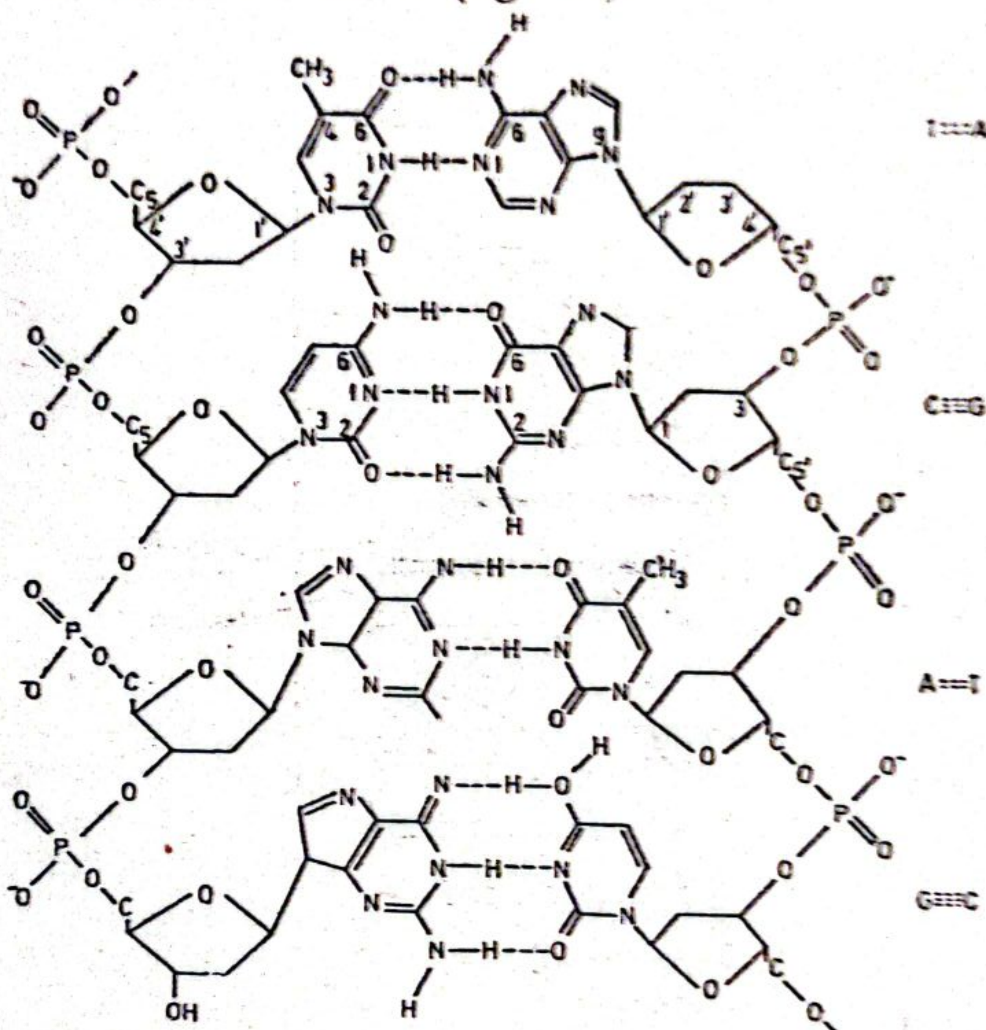


Fig. 12. Segment dintr-o moleculă de ADN. *Structura primară monocatenară* în zig-zag este determinată de legăturile dintre nucleotizi de tipul 3', 5' — monofosfodiester. *Structura secundară bicatenară* este constituită din două catene orientate în direcţii opuse cu baze azotate complementare, legate prin punţi de hidrogen: două legături de hidrogen între adenină (A) şi timină (T) şi trei legături de hidrogen între guanină (G) şi citozină (C).

În structura secundară a ADN, una dintre catene are o direcţie ascendentă, iar cealaltă descendentă. Orientarea spaţială inversă sau antiparalelă a celor două catene complementare este determinată de faptul că la

același nivel al bicatenei adiționarea radicalului fosforic la dezoxiriboză este diferită. Astfel, așa cum s-a precizat anterior, într-o catenă este adiționat în poziția 3′, iar în catena complementară în poziția 5′.

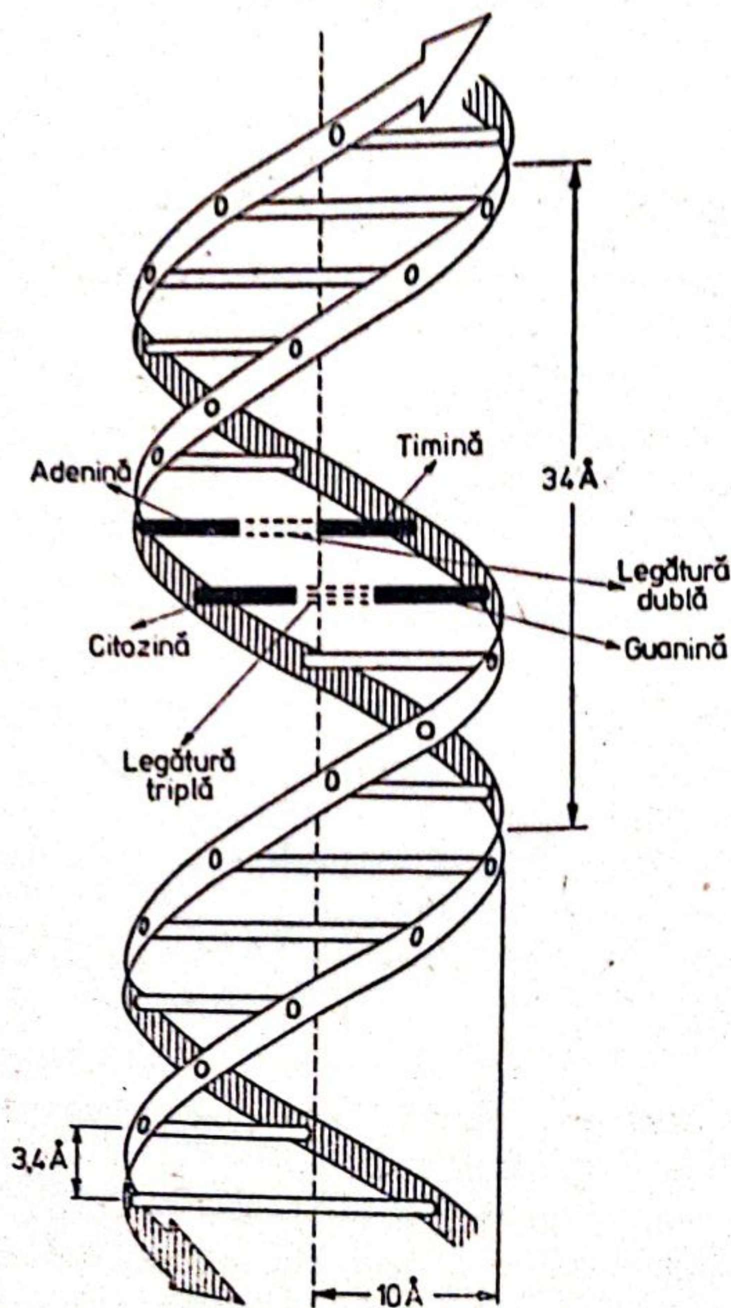


Fig. 13. Modelul structurii bicatenare dublu — helicoidale a moleculei de ADN.

Distanța între doi nucleotizi succesivi din catena de ADN este de 3.4 Å, iar pasul elicei (o rotire a helixului) este de 34 Å, ceea ce corespunde la 10 perechi de nucleotizi. Grosimea macromoleculei este de 20 Å (fig. 13).

Masa moleculară a ADN este variabilă în funcţie de materialul din care a fost izolat, precum şi în funcţie de metoda de extracţie. De exemplu, greutatea moleculară a ADN extras din timusul de viţel variază între 5 850 000 şi 16 500 000, la cel extras din eritrocitele sîngelui de găină este de 11 600 000 ş.a.

Structura macromoleculei de ADN alcătuită din două catene complementare îi măreşte stabilitatea şi asigură continuitatea prin replicare semiconservativă. Stabilitatea structurală derivă din faptul că toate perechile de baze purinice-pirimidinice (A=T şi T=A, respectiv G≡C şi C≡G) au aceeaşi dimensiune, în timp ce luată separat, molecula pirimidinică este mai mică decît cea purinică. (*P. Raicu*, 1974)

ACIDUL RIBONUCLEIC (ARN)

Acidul ribonucleic (ARN) reprezintă, de asemenea, un complex macromolecular, structural şi funcţional. ARN rezultă din polimerizarea unor ribonucleotizi care determină formarea unor lanţuri lungi monocatenare. Bazele azotate sînt: *adenina*, *guanina*, *citozina* şi *uracilul*, iar componentul pentozic este *riboza*. Polimerizarea implică cele patru tipuri de nucleotizi legate prin legături fosfodiesterice în poziţiile 3′—5′ (de ataşare a radicalului fosforic la nivelul ribozei).

Deosebirea principală între ADN şi ARN constă în faptul că molecula de ARN este constituită dintr-un singur lanţ polinucleotidic (în care în locul timinei se află uracil, iar în locul dezoxiribozei se află riboza). Deci, ARN are o structură primară monocatenară (fig. 14).

Sînt două clase de ARN şi anume: una care controlează ereditatea la unii viruşi, alta care este implicată în sinteza substanţelor proteice.

ARN-VIRAL. Studiul unor viruşi, aşa cum este virusul mozaicului tutunului (prescurtat VMT), virusul gripei, virusul stomatitei veziculare, bacterio-

fagul de tip F2 ş.a., a relevat că la aceste organisme purtătorul informaţiei ereditare este acidul ribonucleic. Cercetările lui *H. Fraenkel-Conrat* şi *R. C. Williams* (1955) au demonstrat că particula de ARN fără înveliş proteic este capabilă să infecteze planta de tutun.

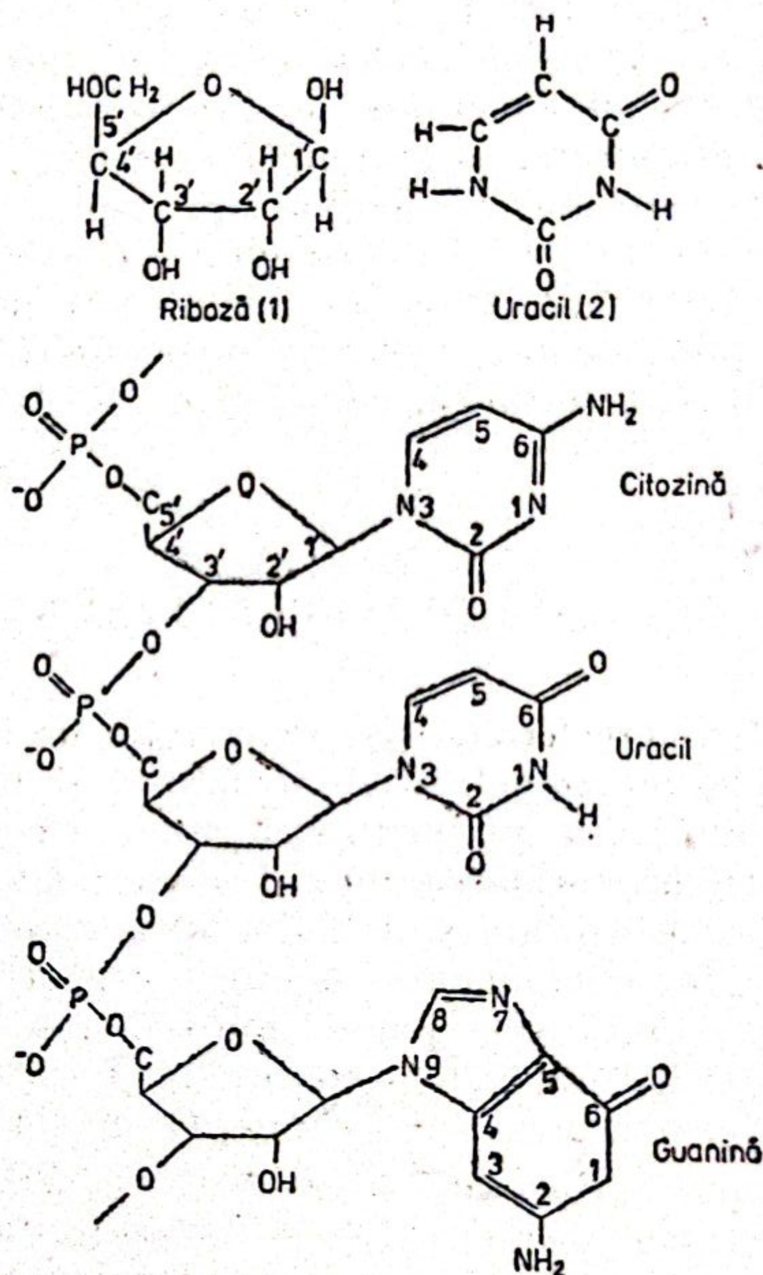


Fig. 14. Componentele şi structura chimică a moleculei monocatenare de acid ribonucleic (ARN). În molecula de ARN baza uracil înlocuieşte timina, iar riboza înlocuieşte dezoxiriboza.

ARN-viral se reproduce prin replicare semiconservativă (catena veche de ARN îndeplineşte rol de matrice pentru o nouă catenă de ARN).

ARN-IMPLICAT ÎN BIOSINTEZA PROTEINELOR. Există trei tipuri de acid ribonucleic, prezente în toate celulele, și care, avînd structuri și funcții diferite, joacă un rol esențial în biosinteza proteinelor. Aceste tipuri sînt: *acidul ribonucleic mesager* — *m*ARN, *acidul ribonucleic solubil* sau de *transfer* — *s*ARN sau *t*ARN și *acidul ribonucleic ribozomal* — *r*ARN. În celule se găsește o mare cantitate de rARN (80—90% din ARN celular), o cantitate oarecare de *s*ARN (10—15%) și o cantitate mică de *m*ARN (mai puțin de 2% din ARN celular). Aceste tipuri de ARN nu servesc niciodată ca matrice pentru sinteza unor catene complementare de ARN, ci sînt sintetizate conform modelului reprezentat de către ADN care joacă rol de matrice.

ARN mesager. *m*ARN este sintetizat în timpul *transcripției* mesajului genetic (procesul de transcriere a informației genetice conținută de catena de ADN într-o secvență complementară de *m*ARN) și servește ca tipar pentru sinteza proteinelor. Pe lîngă faptul că *m*ARN preia informația genetică de la ADN, are rolul și de a transmite această informație (prin translație) organitelor citoplasmice (ribozomi) cu rol în sinteza proteinelor. Ca urmare, acest tip de acid ribonucleic a fost denumit ARN mesager de către *F. Jacob* și *J. Monod*, în 1961.

*m*ARN are următoarele caracteristici: este foarte repede sintetizat și tot atît de repede distrus (în mai puțin de 5 minute la bacterii), are o singură catenă, complementară uneia dintre catenele ADN-ului la nivelul căreia a fost sintetizat. Greutatea moleculară a *m*ARN variază de la un organism la altul (între 5×10^5 și 4×10^6). Moleculele de *m*ARN formează împreună cu ribozomii complexe denumite *poliribozomi*.

ARN solubil sau de transfer. *s*ARN sau *t*ARN este similar ca structură cu oricare acid ribonucleic. Are o greutate moleculară de circa 25 000 și se găsește în celulă într-o cantitate de 10—15% din totalul ARN. *s*ARN are rolul de a activa enzimele din citoplasmă. Apoi, reacționează cu aminoacizii specifici — formînd

grupările *aminoacil-sARN*, care sînt transferate la locul de biosinteză a proteinelor: complexul *mARN-ribozomi* sau poliribozomi. După includerea aminoacidului specific în lanțul polipeptidic, *s*ARN este eliberat, urmînd a se uni și a transfera alte molecule din același aminoacid specific.

Macromolecula de *s*ARN prezintă trei regiuni distincte: *regiunea anticodonului* (regiunea de curbură în care se află o secvență de trei nucleotizi necomplementari altor baze din molecula de *s*ARN), care conferă specificitate *s*ARN, prin care acesta reacționează specific cu o tripletă de baze sau *codon* din *m*ARN (*codon*=o succesiune de trei nucleotizi ce condiționează plasarea unui anumit aminoacid în lanțul polipeptidic); *regiunea intermediară* care este dublu helicoidală și conține circa 30 perechi complementare de nucleotizi, și *regiunea terminală sau cu capete libere*, care cuprinde la un capăt tripleta CCA (citozină-citozină-adenină); celălalt capăt liber al macromoleculei de *s*ARN se termină cu guanină (G). Alte cercetări relevă posibilitatea ca molecula de *s*ARN să posede între una pînă la trei regiuni de curbură sau bucle, deci fiecare poate avea 1—3 anticodoni, esențiali în recunoașterea, descifrarea sau decodificarea codului *m*ARN (fig. 15).

Se consideră că sînt 64 de tipuri de *s*ARN corespunzătoare celor 64 de codoni, prevăzuți de Gamow conform relației $4^3=64$, în care 4 reprezintă numărul de baze azotate, iar 3, asocierea a trei baze azotate care codifică un aminoacid, respectiv tripletul de nucleotizi sau codonul (*G. Gamow*, 1967).

La capetele libere ale moleculei de *s*ARN se atașează aminoacidul. Anticodonul moleculei de *s*ARN recunoaște un anumit codon din *m*ARN, care este complementar, unindu-se temporar cu el pe baza principiului complementarității bazelor azotate (de exemplu, codonul AUG din *m*ARN este complementar anticodonului UAC din *s*ARN) și făcînd astfel posibilă plasarea unui aminoacid în lanțul polipeptidic, exact acolo unde trebuie, așa cum a transmis ADN mesajul prin intermediul *m*ARN.

Informaţia genetică este astfel tradusă dintr-o secvenţă de baze azotate de la nivelul ADN într-o anumită secvenţă de aminoacizi din lanţul polipeptidic.

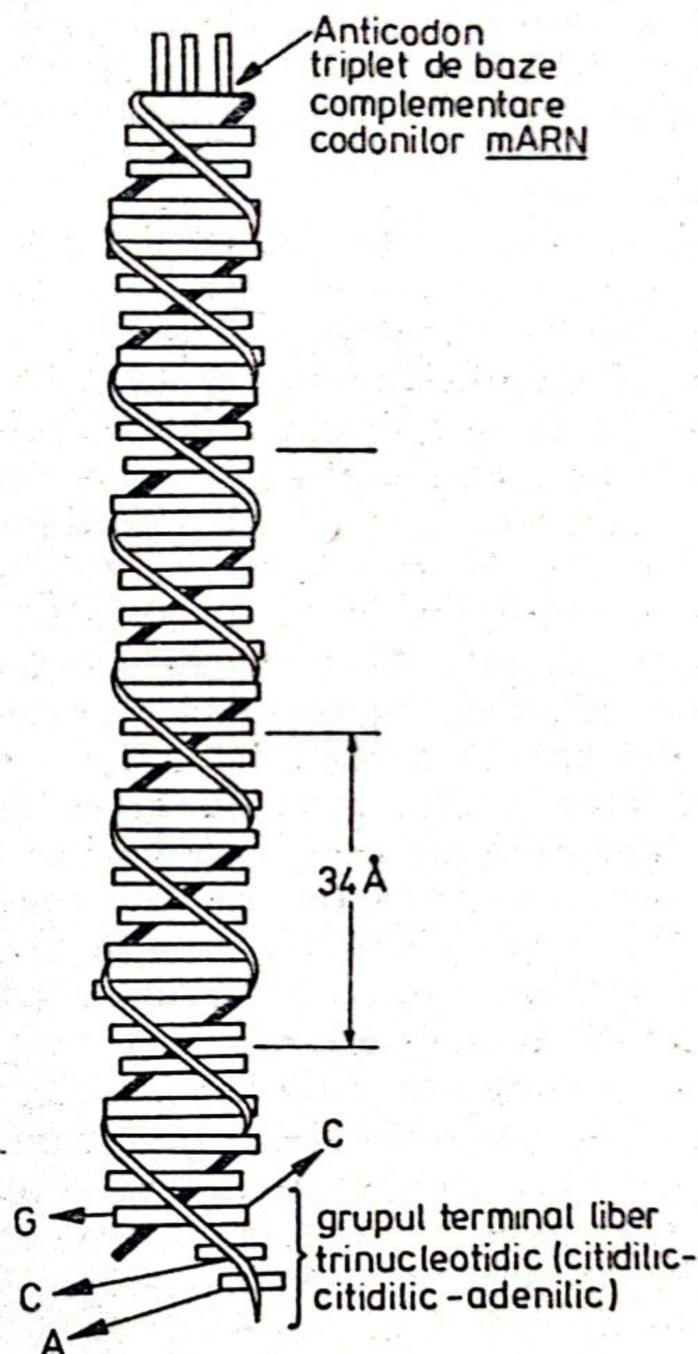


Fig. 15. Modelul structurii moleculei acidului ribonucleic solubil sau de transfer (*s*ARN) (după *Zubay*, 1963).

*s*ARN este sintetizat de diverse gene. Faptul că anticodonul din *s*ARN este complementar unor codoni din *m*ARN duce la concluzia că molecula de sARN, cel puţin pentru regiunea anticodonului, este sinteti-

zată la nivelul unei monocatene de ADN care este complementară acelei monocatene de ADN la nivelul căreia a avut loc sinteza moleculei de *m*ARN. Deci, o secvență dintr-o moleculă de ADN care reprezintă o genă servește printr-o catenă la transcripția mesajului genetic în *m*ARN, iar prin cealaltă catenă servește la transcripția *s*ARN care servește la decodificarea mesajului genetic.

ARN ribozomal. *r*ARN reprezintă circa 60% din masa ribozomilor și circa 80—90% din totalul ARN celular. Una dintre caracteristicile principale care deosebește *r*ARN de celelalte tipuri de ARN constă în aceea că el apare întotdeauna legat de proteine. Cercetările au relevat că lanțul *r*ARN este constituit atît din porțiuni monocatenare cît și din porțiuni bicatenare helicoidale cu bucle monocatenare. În lanțul polinucleotidic al *r*ARN raportul (molar) între bazele azotate componente este în favoarea bazelor purinice. Molecula de *r*ARN are peste 1 000 de nucleotizi. Studiul secvenței bazelor azotate în *r*ARN a dus la constatarea că aceasta este complementară unor regiuni particulare din ADN de către care au fost sintetizate. La organismele eucariote (plante și animale) sinteza *r*ARN are loc în nucleol, *r*ARN avînd o structură complementară ADN-ului situat în regiunile cromozomilor cu organizatori nucleolari.

Cercetări recente asupra cromozomilor au relevat că aceștia, alături de ADN și proteine, conțin și o cantitate oarecare de ARN (prezența acestuia este relevată prin colorare cu verde de metilpironină precedată de „digestia" cu RN-ază). ARN-ul reprezintă 10,9% din cromozomii izolați din celule prin metoda sedimentării în gradient de zaharoză 2,2 M (ADN reprezintă 16,2%, iar proteinele 72,9%, din care 56,8% histone și 29,6% nehistone) (*M. Ionescu-Varo*, 1976). ARN din cromozomi deosebit de *m*ARN și *s*ARN a fost numit *ARN cromozomal* — *c*ARN.

Asupra ARN cromozomal au făcut cercetări *R. Huang* (1965), care a descoperit *c*ARN, *D. Bogdanovsky* (1973) și alții. (Cercetările sînt în curs). Aceste cercetări

au dus la concluzia că molecula de *c*ARN este alcătuită dintr-o catenă de 40–50 nucleotizi, bogată în acid dihidrouridilic, care este legată de un peptid; în proporție de 50% *c*ARN are o constantă de sedimentare de 35 S. În nucleu *c*ARN are rolul de a reasocia elementele disociate ale cromatinei iar în citoplasmă inițiază sinteza proteică.

Spre deosebire de *s*ARN, *r*ARN și *m*ARN, *c*ARN poate hibrida în proporție mult mai mare cu ADN.

FUNCȚIILE GENEI

Gena are două funcții de bază: *funcția autocatalitică* și *funcția heterocatalitică*.

FUNCȚIA AUTOCATALITICĂ a genei constă în autoreplicarea ei. Prin autoreplicare, genele se reproduc exact în diviziunea mitotică, transmițînd din generație in generație structura lor și caracteristicile ereditare. Studiul ciclului celular a relevat existența unei anumite constanțe în dinamica cantității de ADN în celule. Astfel, după diviziunea celulară mitotică, în perioada de presinteză (G1 — gol sintetic) cantitatea de ADN rămîne constantă și egală cu 2C (două cromoneme). După această perioadă are loc sinteza proteică care determină creșterea celulei. S-a constatat că dacă în G1 este inhibată sinteza ARN și deci nu mai are loc sinteza unor proteine specifice, nu va mai avea loc nici mitoza, deoarece nu se mai inițiază replicarea ADN. După perioada G1, urmează *perioada de sinteză* (S — sinteză), în care are loc replicarea ADN care se încheie prin dublarea sa (4C — patru cromoneme). Apoi, urmează *perioada de postsinteză* (G2 — gol sintetic) în care se prezervă cantitatea dublă de ADN (4C). În timpul mitozei, în profază și metafază, cantitatea de ADN rămîne constantă. În anafază cînd cromozomii se separă și se deplasează spre cei doi poli, cantitatea de ADN se reduce la jumătate, astfel că ambele celule-fiice au o cantitate de ADN egală cu celula-mamă, carac-

teristică speciei (*P. Raicu*, 1974). Cantitatea de ADN din fiecare celulă-fiică se va dubla în perioada S a interfazei următoare diviziunii mitotice.

Diviziunea meiotică, care se desfăşoară în celule somatice diploide (2*n*) şi determină formarea celulelor gametice haploide (*n*) în urma înjumătăţirii numărului membrilor cromozomali, reduce la jumătate şi cantitatea de ADN. Astfel, în timp ce celulele somatice au o cantitate dublă de ADN, celulele gametice vor avea doar jumătate. Cantitatea de ADN se dublează în urma singamiei gameţilor şi formării zigotului diploid.

Sinteza replicativă a ADN. *J. D. Watson* şi *F. H. C. Crick* (1953), elaborînd modelul de structură a macromoleculei de ADN, au formulat ipoteza că replicarea sau duplicarea ADN este *semiconservativă*. Potrivit acestei ipoteze cele două catene complementare ale macromoleculei de ADN se separă prin ruperea legăturilor de hidrogen dintre perechile de baze complementare astfel că cele două catene ale helixului devin independente. După separare, fiecare dintre cele două catene serveşte ca matrice pentru sinteza enzimatică a unei noi catene, complementară modelului sau matricei în privinţa ordinei nucleotizillor. Astfel, dintr-o macromoleculă originală bicatenară de ADN rezultă două macromolecule bicatenare identice. Trebuie remarcat însă faptul că macromoleculele-fiice sînt noi numai pe jumătate, deoarece fiecare dintre ele este constituită dintr-o catenă veche care a servit ca matrice şi una nouă, sintetizată semiconservativ.

Mecanismul sintezei replicative a ADN presupune patru momente sau procese distincte: *în primul moment* are loc *deschiderea progresivă a bicatenei complementare* începînd la extremitatea sau într-un punct oarecare al macromoleculei originale de ADN prin ruperea legăturilor de hidrogen între cele două lanţuri polinucleotidice. Deschiderea se continuă de-a lungul helixului dublu asemănător cu desfacerea unui fermoar; *în momentul secund* are loc *asocierea treptată a nucleotizilor liberi cu bazele complementare* situate în una sau

alta din cele două catene matrice. Asocierea are loc în prezența ADN-polimerazei; *în momentul trei* are loc *realizarea bicatenei* prin formarea unor punți de hidrogen între cele două catene polinucleotidice complementare (o catenă veche care a îndeplinit rol de matrice și una nouă sintetizată replicativ). Astfel, la o adenină în catena veche va fi inclusă în catena nouă o timină urmată de formarea între ele a unor punți de hidrogen: două între timină și adenină și trei între guanină și citozină. Concomitent are loc formarea legăturilor fosfat dintre nucleotizii adiacenți. Realizarea helixului dublu (închiderea fermoarului) are loc prin deplasarea treptată a ADN-polimerazei de la o pereche de nucleotizi la alta; *în momentul patru* are loc *răsucirea celor două catene* una în jurul celeilalte și formarea helixului dublu (fig. 16).

Acest model de sinteză a ADN, intuit de Watson și Crick, a fost demonstrat autoradiografic de *J. H. Taylor* (1957) prin marcare cu timidina tritiată la nivel cromozomal (la plantule de *Vicia faba*, *Crepis capillaris*, *Allium cepa*, la celule de om, hamster etc.) și de *M. S. Meselson* și *F. W. Stahl* (1958) prin marcarea nucleotizilor cu izotopul obișnuit al azotului N^{14} și cu izotopul greu N^{15}.

Cercetările autoradiografice au arătat că în general sinteza ADN este inițiată într-un număr diferit de puncte de-a lungul cromozomului, regiunile eucromatice replicîndu-se înaintea regiunilor heterocromatice. Dacă la animale heterocromatina se replică mai tîrziu, la plantele anuale s-a constatat că heterocromatina se replică mai devreme decît eucromatina. De aici s-a tras concluzia că heterocromatina ar imprima o scurtare a duratei ciclului celular.

Este interesantă constatarea relevată prin studiul autoradiografic a unor celule He La marcate, că inițierea replicării ADN are loc (la eucariote) în porțiunile cromozomilor atașate pe membrana nucleară interfazică, de unde continuă în ambele direcții. Se pare că terminarea sintezei are loc tot pe membrana nucleară.

La organismele eucariote care au un nucleu tipic (cu membrană nucleară dublă), în cadrul căruia apar în timpul diviziunii cromozomii, autoreplicarea ADN-

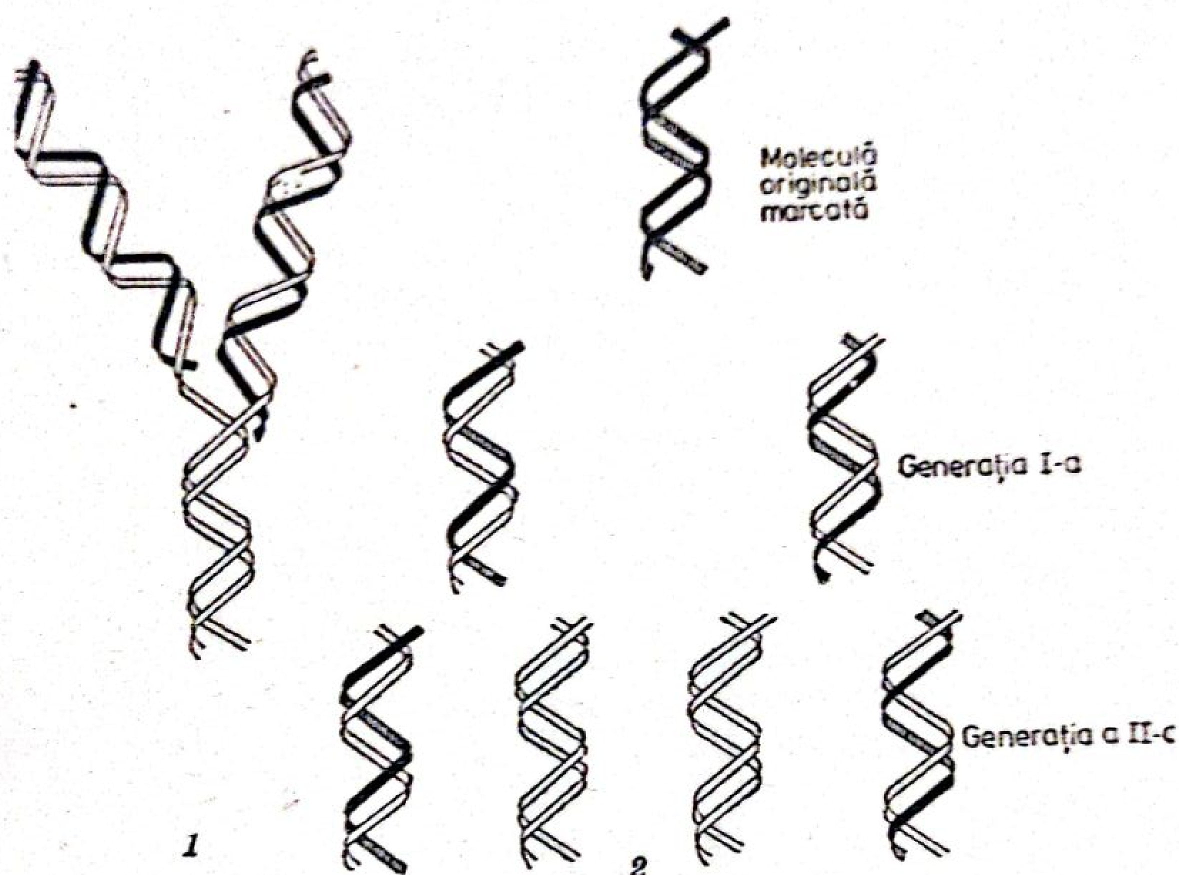


Fig. 16. Replicarea semiconservativă a moleculei de ADN: *1* — Noile catene în negru sînt complementare celor două catene vechi și se sintetizează treptat odată cu despiralizarea moleculei originale parentale de ADN; *2* — replicarea semiconservativă a unei molecule de ADN marcată radioactiv în două generații succesive. În generația I-a fiecare din cele două molecule-fiice posedă doar cîte o catenă marcată și o catenă nemarcată; în generația a II-a din cele 4 molecule două posedă cîte o catenă originală marcată și cîte o catenă nouă nemarcată, iar două molecule au ambele catene nemarcate.

ului este însoțită de sinteza fracțiunii proteice cu care ADN se află complexat.

Sinteza ARN. Molecula de ARN-viral se sintetizează prin autoreplicare în celula parazitată. În acest proces catena de ARN-viral injectată servește ca matrice pentru replicarea unor copii noi de particule

virale. Replicarea moleculelor de ARN-viral are loc în prezența enzimei ARN-sintetaza care catalizează prin copierea informației biosinteza moleculelor de ARN din ribovirusi.

Acizii ribonucleici cu rol în sinteza proteinelor se găsesc atît în nucleu cît și în citoplasmă. Din cercetările efectuate s-a ajuns la concluzia că locul de sinteză al ARN cu rol în biosinteza proteinelor este nucleul, în care catenele de ADN servesc ca matrice pentru transcripție, după care el migrează în citoplasmă. Existența complementarității și a unei corespondențe între raportul dintre bazele azotate din ADN și ARN constituie o dovadă incontestabilă a faptului că ADN servește drept matrice pentru sinteza ARN.

Complementaritatea între ADN și ARN celular este demonstrată printre altele de realizarea de hibrizi moleculari între ADN și ARN (mesager, solubil și ribozomal; în cazul cînd atît ADN cît și ARN sînt extrase din aceeași specie).

Ideea complementarității ADN și ARN celular este sprijinită de existența unui raport dinamic, a unei proporționalități, între cantitatea de ADN și cea de ARN din celulă. S-a constatat astfel că o scădere a cantității de ADN din celulă provoacă o reducere corespunzătoare a cantității de ARN celular.

Aceste observații demonstrează că biosinteza tipurilor de ARN celular este supusă controlului ADN.

Sinteza ARN este maximă în interfază. Ea începe principial în perioada G1 (cînd are loc sinteza unor proteine specifice cum este timidinkinaza care inițiază sinteza ADN în perioada S), se intensifică în perioadele S și G2 și încetează total în metafază.

Acidul ribonucleic cromozomal cARN este sintetizat în perioada S, concomitent cu ADN.

Replicarea materialului genetic celular reprezintă o etapă esențială în ciclul vital al unui organism. Prin acest fenomen se realizează dublarea replicativă a plasmei germinative, care face ca fiecare celulă rezultată în urma diviziunii să primească aceeași cantitate de informație ereditară.

Principala sursă de energie pentru desfăşurarea metabolismului intermediar şi a funcţiilor celulare o constituie fosforilarea oxidativă. Tot astfel, pentru realizarea biosintezei catenelor de ADN şi ARN prin polimerizarea nucleotizilor şi pentru asigurarea stabilităţii lor, este consumată o anumită cantitate de energie liberă. Energia necesară rezultă în urma hidrolizei adenozintrifosfatului (ATP). Într-adevăr, prin hidroliza ATP rezultă adenozindifosfat (ADP) şi un radical fosforic (P) precum şi o cantitate importantă de energie. De exemplu, din hidroliza oricăreia din legăturile terminale fosforice rezultă între 5 000 şi 8 000 de calorii. Reacţia se realizează prin transferul uneia din grupele fosfat de la o moleculă la alte substanţe sub acţiunea unor enzime. Acest proces este catalizat de enzime numite transferaze.

Reglarea sintezei ADN. Sinteza ADN este reglată enzimatic.

Mecanismele reglării se manifestă la diferite nivele: celular, cromozomal, intracromozomal şi genic. Reglarea la *nivel celular* este determinată de faptul că replicarea ADN are loc numai într-o perioadă precisă a ciclului mitotic şi anume în perioada S, precum şi în interfaza ce precede meioza sau la începutul profazei I.

Sinteza ADN este reglată şi la *nivel cromozomal*, prin asincronia dublării cromozomilor. Unii cromozomi se replică la începutul perioadei S, iar alţii la sfîrşitul acesteia. Astfel, la mamifere, autozomii se replică mai devreme, şi sincron, în timp ce heterocromozomii (perechea de cromozomi XX la sexul femel ♀ şi perechea de cromozomi XY la sexul mascul ♂), se replică diferenţiat. La femele unul dintre cromozomii X se replică tardiv şi devine heterocromatic (cromatina sexuală în nucleul interfazic), iar la mascul cromozomul X se replică timpuriu, iar cromozomul Y se replică mai tîrziu şi suferă un proces de heterocromatinizare.

Replicarea ADN este reglată şi la nivel *intracromozomal*. Astfel, la eucariote, sinteza ADN începe simultan în diverse regiuni ale cromozomului dar se desfăşoară diferenţiat. Din aceste constatări s-a tras

concluzia că cromozomii la eucariote sînt constituiţi din mai multe unităţi care se replică relativ independent şi asincron. Aceste unităţi au fost denumite *repliconi*.

După cum s-a precizat la prezentarea cromozomilor politeni din glandele salivare ale dipterelor, marcarea cu timidină tritiată a relevat că pentru organismele eucariote cromomerele îndeplinesc rol de repliconi. Se admite chiar că cromomerele-repliconi ar fi similare cu cromozomii procariotelor (viruşi, bacterii) care se comportă ca repliconi unici.

Sinteza ADN este reglată şi la nivel *genic*. Anumite gene servesc la prezervarea integrităţii catenei matrice, la controlul sintezei enzimelor ce iniţiază sau controlează polimerizarea dezoxiribonucleotizilor etc. Un reglaj genic se manifestă şi în distribuţia genelor in celulele-fiice ş.a. Trebuie subliniat şi faptul că de exemplu replicarea cromozomului bacterian este controlată de o genă *replicator* a cărei activitate este sincronizată cu cea a regiunii membranei celulare de care este ataşat cromozomul circular bacterian (acest segment de membrană la bacterii se numeşte *mezozom*; el realizează coordonarea între replicarea ADN şi diviziunea celulară următoare).

FUNCŢIA HETEROCATALITICĂ a genei se realizează prin controlul de către aceasta a biosintezei proteinelor caracteristice şi respectiv a unor enzime specifice.

Numărul de aminoacizi care intră în alcătuirea proteinelor cu rol structural sau enzimatic este de 20. Prin combinarea lor variată, spaţial şi numeric, în catenele polipeptidice se realizează un număr imens de proteine. Pînă în prezent au fost identificate la plante şi la animale peste 100 000 de proteine diferite dar numărul lor este mult mai mare.

Mecanismul sintezei proteice cuprinde două procese esenţiale şi anume *transcripţia* şi *translaţia*.

Transcripţia genetică este un proces de sinteză enzimatică în care informaţia genetică conţinută într-o formă codificată în secvenţa polinucleotizilor din mole-

cula de ADN este folosită în ordonarea unei secvențe complementare de nucleotizi în molecule de ARN. În acest proces sînt sintetizate secvențe de *m*ARN, *t*ARN și *r*ARN (precum și catene de ARN-viral care servesc ca matrice în sinteza proteinelor ribovirușilor).

Secvența nucleotidică a fiecăruia dintre aceste tipuri de ARN (cu excepția ARN-viral) este determinată de diverse fragmente ale ADN care servesc ca matrice, de unde și faptul că în urma transcripției rezultă catene de ARN complementare.

În cazul transcripției *m*ARN, acesta preia mesajul genetic de la o catenă de ADN de la care copiază informația genetică. Apoi *m*ARN se desprinde de pe catena matrice de ADN și trece din nucleu în citoplasmă, la nivelul ribozomilor — sediul sintezei proteice celulare. În acest proces se realizează cel de-al doilea aspect al funcției heterocatalitice a genei — *translația mesajului genetic* codificat în secvența de nucleotizi specifici din moleculele de *m*ARN. La nivelul citoplasmei, *r*ARN orientează aminoacidul activat (legat de molecula de *s*ARN) și molecula de *m*ARN în așa fel încît să fie înlesnită decodificarea mesajului genetic. Apoi, mesajul genetic din *m*ARN este transformat într-o secvență de aminoacizi (într-un lanț polipeptidic). Deci, sinteza proteică are loc în prezența ARN și nu a ADN.

În general, în celulele sau țesuturile unde are loc o biosinteză proteică intensă (de exemplu în celule embrionare, în țesuturile meristematice și în țesuturile în curs de regenerare, în tumori etc.), se observă o sinteză deosebit de activă a ARN.

Una dintre primele dovezi că genele controlează secvența aminoacizilor din proteine a fost furnizată de studiile efectuate asupra hemoglobinei din boala sîngelui numită anemie falciformă. Moleculele hemoglobinei A de tip sălbatic sînt constituite din două tipuri diferite de lanțuri polipeptidice: lanțuri sau catene α și catene β. Fiecare catenă are o masă moleculară de circa 16 100, iar fiecare moleculă conține două catene α și două catene β, masa moleculară a hemoglobinei fiind de 64 500. Numărul de aminoacizi în cele

patru catene polipeptidice este de circa 600 (cîte circa 150 într-o catenă în secvențe caracteristice). Cercetările au relevat faptul că sinteza catenei α și a catenei β este controlată, fiecare în parte, de cîte o genă distinctă, astfel încît o mutație apărută în una dintre gene va afecta fie catena α, fie catena β și nicidecum pe amîndouă catenele. Hemoglobina din anemia falciformă se deosebește de cea normală prin substituirea unui singur aminoacid din catena β (a acidului glutamic cu valina). Cu excepția acestei singure schimbări, întreaga secvență de aminoacizi din peptidele hemoglobinei normale și mutante este identică. Înseamnă că o mutație survenită într-una din cele două gene care controlează separat sinteza catenei α și a catenei β are drept rezultat o schimbare specifică în matricea pentru hemoglobină. Rezultă că cele două gene conțin întreaga informație necesară secvențelor de aminoacizi ai hemoglobinei. Concluzia se bazează și pe analiza secvențelor de aminoacizi din hemoglobinele izolate de la persoane care suferă și de alte forme de anemie. Din aceste analize se desprinde faptul că fiecare formă specifică de anemie este caracterizată prin substituirea unui singur aminoacid dintr-o anumită poziție a unei catene polipeptidice din constituția hemoglobinei. (*J. D. Watson*, 1974)

Astfel, gena prin funcția sa heterocatalitică controlează secvența aminoacizilor din proteine. Rezultă că în sistemele biologice, fără acizii nucleici din gene, nu are loc sinteza proteică.

ACȚIUNEA GENEI ȘI DEZVOLTAREA ORGANISMELOR

Materialul genetic, organizat în gene, îndeplinește un rol esențial printre constituenții ființelor vii. El ocupă vîrful piramidei și determină însușirile organismului. Alți constituenți ai organismului sînt executanți ai dictatului genelor. Dar, fără citoplasma care-l înconjură, nucleul nu-și poate transforma informația genetică în realitate concretă. Rezultă că celula în totalitate

reprezintă unitatea elementară a viului, manifestînd însușirile esențiale ale viului: metabolismul, creșterea și reproducerea.

Gena, cu toate că reprezintă unitatea de funcție și de analiză genetică, nu are autonomie deplină. Expresia sa depinde adesea de alte gene cu care se află în asociație. Întregul material genetic, combinația particulară a genelor existentă într-un organism (așa-numitul *genotip*), determină dezvoltarea, forma și proprietățile acestuia.

Mecanismul eredității cere prezența în cromozomi a unei substanțe înzestrate cu două virtuți rare: puterea de a se reproduce cu exactitate și cea de a influența prin activitatea sa proprietățile organismului.

Calitățile ființelor vii se întemeiază, în ultimă analiză, pe două entități: pe ceea ce geneticștii numesc genă și pe ceea ce biochimiștii numesc proteină. Prima este unitatea ereditară care controlează și determină în egală măsură reproducerea unei funcții și variațiile ei. Cea de-a doua îndeplinește reacțiile și conferă structură corpurilor vii. Una comandă, cealaltă realizează (*F. Jacob*, 1972).

Totalitatea proceselor biochimice care determină transformarea informației conținută de o genă în caracteristică fenotipică este denumit *sistem de acțiune a genei* (*G. H. Waddington*, 1967).

În funcționarea unei anumite celule participă numeroase proteine care adesea acționează ca enzime sau catalizatori biologici ce controlează numeroasele și diferitele reacții chimice produse simultan în interiorul fiecărei celule. Alături de acizii nucleici, proteinele sînt constituenții chimici cei mai importanți ai celulei, substratul material al tuturor caracteristicilor unui organism.

Substanțele proteice cu activitate catalitică sînt principalele răspunzătoare pentru caracteristicile sau proprietățile fenotipice ale unei celule oarecare la un moment dat și în anumite condiții de mediu. Genotipul unei celule (totalitatea genelor) determină potențialitatea dezvoltării și cantitățile relative ale proteinelor pe care le poate produce o celulă.

Dacă, așa cum apreciază *J. D. Watson* (1974) o genă de dimensiune medie conține 900 de perechi de nucleotizi care sînt subîmpărțite în 300 de codoni (tripleți de baze care codifică cîte un aminoacid), rezultă că mărimea medie a proteinelor, evaluate la o masă moleculară în jur de 30 000, este de 300 aminoacizi. Aceste subunități ale lanțului macromolecular sînt legate între ele într-o secvență specifică. Fiecare proteină include toți sau aproape toți cei 20 aminoacizi. O extremitate a lanțului polipeptidic este constituită dintr-o grupare NH_2 liberă (N — terminală), iar cealaltă extremitate este constituită dintr-o grupare carboxil COOH liberă (C — terminală).

Structura complexă a proteinelor se poate divide în mai multe nivele de organizare: structură primară, structură secundară, structură terțiară, structură cuaternară.

Unele proteine, cum este mioglobina în a cărei constituție intră 153 de aminoacizi, conțin un singur *lanț polipeptidic*, altele, cum este insulina (cu 51 aminoacizi) au două lanțuri polipeptidice, iar hemoglobina are patru lanțuri polipeptidice.

Structura primară a unei proteine este reprezentată de o secvență de aminoacizi sau de o catenă polipeptidică care este sintetizată de un cistron sau o genă.

În *structura secundară a proteinelor* apar configurații regulate ale scheletului polipeptidic, determinate de existența unor punți de hidrogen între grupări aflate pe lanțuri polipeptidice diferite sau între grupări aflate pe același lanț. Legăturile de hidrogen sînt de tipul imino (N—H) și keto (C=O). Acest fel de legături determină răsucirea „coloanei vertebrale" a polipeptidului și formarea unei spirale cilindrice (forma de elice α sau α *helix*).

În *structura terțiară*, proteina apare într-o formă tridimensională, în general, neregulată, datorită mai ales distorsionării structurii helicoidale a proteinelor ca și altor cauze (în special naturii chimice diferite a grupărilor laterale ale aminoacizilor prin care se realizează interacțiuni secundare, cu alte grupări atomice). Configurația tridimensională reprezintă dispunerea cea

mai avantajoasă din punct de vedere energetic a lanțului polipeptidic.

Studiul structurii proteinelor a contribuit la elucidarea unor aspecte privind: numărul aminoacizilor care alcătuiesc o moleculă proteică, ordinea, sau secvența aminoacizilor în moleculă, modificările succesiunii aminoacizilor în structura primară a moleculei proteice etc.

Totodată s-a stabilit că o serie de aspecte ale structurii lor (secundare, terțiare, cuaternare) sînt o consecință a structurii primare, fapt ce relevă o serie de implicații genetice.

În legătură cu cele relatate trebuie menționat rolul de enzime, de catalizatori, îndeplinit de proteine în celulele vii. Proteinele au o acțiune specifică. Ele pot fi enzime „constitutive" (cînd sînt produse în cantități fixe independent de necesitățile celulei), „inducibile" (nu sînt sintetizate în lipsa substratului), „represibile" (rata producerii lor descrește cînd concentrația intracelulară a unor metaboliți crește) ș.a.; proteinele „structurale" nu au activitate catalitică ci îndeplinesc un rol de legătură, elasticitate, de extensie și contracție etc.

CODUL GENETIC

Cercetările privind corespondența dintre succesiunea nucleotizilor în macromolecula acizilor nucleici și succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic au dus la descoperirea *codului genetic*. Potrivit codului genetic în macromoleculele acizilor nucleici din gene este înscrisă biochimic informația ereditară. Deci, macromolecula de acizi nucleici (în principal de ADN, dar și de ARN-viral) poartă un cod care determină o anumită informație genetică. *Codul genetic* constă, așadar, în faptul că secvența nucleotizilor din ADN poartă informația genetică ce specifică (codifică) secvența aminoacizilor din proteine, sau, codul genetic reprezintă corespondența care există între grupele de nucleotizi

din molecula de ADN (sau ARN-viral) și aminoacizii incluși în proteinele sintetizate. (*T. Crăciun, V. Crăciun*, 1976)

Cantitatea totală de „instrucțiuni" stocate sub forma unui cod în moleculele de ADN și ARN-viral și care direcționează toate activitățile specifice dintr-o celulă, reprezintă *informația genetică*. Toată informația genetică a unui sistem genetic poate fi conținută într-un grup linkage (un cromozom în viruși și bacterii) sau în cîteva grupe linkage (cîțiva sau mai mulți cromozomi la eucariote).

Transferul informației genetice implică unele procese cum sînt: *replicarea ADN* (sau ARN-viral) cromozomal (funcția autocatalitică) prin transpunerea informației genetice dintr-o formă permanentă (din ADN sau ARN-viral) într-o formă trecătoare (tranzitorie) de cod ARN (sau mesajul genetic) implicat în sinteza proteică.

Informația sau mesajul se transmite printr-un anumit sistem de comunicație, obișnuit, codificat. De exemplu, alfabetul constituie și el un sistem de codificare a informațiilor cu ajutorul literelor (28 litere în limba română) prin a căror asociere variabilă (în număr și succesiune) se poate obține un număr mare de cuvinte și o cantitate uriașă de cărți.

În cazul acizilor nucleici, informația este codificată cu ajutorul a 4 elemente, cele patru tipuri de nucleotizi. Deci, codul genetic se bazează pe cele *patru* baze azotate: adenina, guanina, citozina și timina care sînt indicate prin simbolurile A, G, C și T. Simbolurile folosite formează *alfabetul*.

Prin analogie cu teoria informației dezvoltată pe baza matematicii și ciberneticii, în codul genetic, format din 4 litere, este determinată structura proteinelor, asemenea modului în care pe un carton perforat poate fi consemnat „programul" unei mașini-unelte pentru fabricarea unei anumite piese. Inițial, s-a pus problema de a se stabili dacă mesajul codificat care poartă toată informația necesară pentru a „poziționa" un aminoacid într-un lanț polipeptidic este determinat de un singur simbol (respectiv o bază) sau de un grup

de simboluri (un grup de baze). În cazul că fiecare simbol ar reprezenta un cuvînt, codul ar fi foarte limitat (cod univoc). O asemenea reprezentare nu ar putea indica decît patru evenimente (respectiv patru aminoacizi) înscrise în molecula de ADN. Ca urmare, s-a considerat că deși alfabetul codului genetic cuprinde doar patru simboluri, totuși cu aceste patru litere, în caz că ele participă în diferite combinații la constituirea *cuvîntului de cod* este posibilă alcătuirea a numeroase grupe de cod sau „cuvinte“ care pot fi constituite într-o multitudine de „tipuri de informație“.

Din cercetările întreprinse a rezultat faptul că proteinele sînt alcătuite din lanțuri polipeptidice în care intră cei 20 aminoacizi, care se dispun într-o anumită succesiune specifică pentru fiecare proteină. S-a pus întrebarea, în ce mod succesiunea celor patru simboluri de cod în molecula de ADN determină succesiunea celor 20 aminoacizi din proteine.

G. Gamow (1954) a elaborat prima schemă teoretică a unui cod genetic. Potrivit concepției acestuia cuvintele din cod trebuie să cuprindă o secvență de baze. Într-adevăr el a arătat că dintre cei 20 de aminoacizi, codul univoc nu poate codifica decît 4 aminoacizi ($4^1=4$), iar codul dublu doar 16 aminoacizi ($4^2=16$), deci și în acest caz, numărul total de combinații este mai mic decît numărul aminoacizilor. Ca urmare, el a considerat că numai o secvență de trei nucleotizi ($4^3=$ $=64$) poate realiza codificarea celor 20 aminoacizi. În cazul unei secvențe de trei nucleotizi, numărul de cuvinte de cod depășește de trei ori numărul aminoacizilor, fapt ce conferă o mare eficiență și plasticitate în recunoașterea diferiților aminoacizi (fig. 17).

F. H. C. Crick și colaboratorii (1961—1963) pe baza unor cercetări detaliate pe bacteriofagul T4 a stabilit că „cuvintele“ în cod constau cel mai probabil din grupuri alcătuite din cîte trei litere, din triplete de baze (raportul de cod 3/1).

Un grup de trei baze azotate care codifică un aminoacid a căpătat denumirea de *codon*. Codonii constau dintr-o secvență de trei nucleotizi succesivi de unde și

denumirea de „triplet de baze“ dată „unităţilor de cod“.

Codul genetic este format din codoni care *nu se suprapun*, adică doi codoni succesivi nu au nici un

Cod simplu $4^1 = 4$

A	
G	
C	
U	

Cod dublu $4^2 = 16$

AA	AG	AC	AU
GA	GG	GC	GU
CA	CG	CC	CU
UA	UG	UC	UU

Cod triplu $4^3 = 64$

AAA	AAG	AAC	AAU
AGA	AGG	AGC	AGU
ACA	ACG	ACC	ACU
AUA	AUG	AUC	AUU
GAA	GAG	GAC	GAU
GGA	GGG	GGC	GGU
GCA	GCG	GCC	GCU
GUA	GUG	GUC	GUU
CAA	CAG	CAC	CAU
CGA	CGG	CGC	CGU
CCA	CCG	CCC	CCU
CUA	CUG	CUC	CUU
UAA	UAG	UAC	UAU
UGA	UGG	UGC	UGU
UCA	UCG	UCC	UCU
UUA	UUG	UUC	UUU

Fig. 17. Tipurile de coduri şi structura codonilor.

nucleotid comun. De asemenea, între codoni nu există semne speciale care să marcheze începutul şi respectiv sfîrşitul unui codon. Deci, codul genetic este fără virgule.

Tot pe baza unor cercetări complexe întreprinse de *F. H. C. Crick* şi colaboratorii săi, s-a ajuns la concluzia că citirea codului se face *liniar*, de la un punct fix de plecare, probabil de la unul din capetele genei, şi se citeşte simplu trei baze deodată, spre celălalt capăt al genei. În cazul în care descifrarea pleacă de la un punct greşit, mesagerul nimereşte într-o serie greşită de trei baze şi este incorect. Deci, în timp ce există doar o singură citire corectă pentru codul triplet, există două citiri incorecte.

Aceste concluzii au fost formulate pe baza studiului efectului mutagen al unor substanțe care pot determina adăugarea (duplicația) sau suprimarea (deleția) unui nucleotid dintr-un codon fapt ce determină o citire în continuare greșită și ca urmare toți tripleții următori codifică alți aminoacizi. Mesajul se restabilește dacă de-a lungul moleculei de ADN apare o mutație de un alt tip.

Codonul sau cuvîntul de trei litere (triplet de baze) cu proprietatea de a semnifica (codifica) un anumit aminoacid se numește *codon cu sens*. Schimbarea prin mutație a unui codon cu sens într-un codon care codifică un alt aminoacid se numește *mutație missens* (*cu sens greșit*), iar noul triplet de baze se numește *codon missens*. Codonii care nu codifică nici un aminoacid se numesc *codoni nonsens*. S-a stabilit că există 3 codoni nonsens și anume: UAA (*Ochre*), UAG (*Amber*) și UGA (*Azur*). Acești codoni au rolul de a indica terminalizarea lanțurilor polipeptidice prin separarea genelor în cadrul unui mesaj genetic policistronic.

Faptul că o unitate de cod (un codon) este format dintr-un triplet de baze, a făcut să se utilizeze denumirea de *cod triplet*.

Existența unui număr mai mare de tripleți de baze ($4^3=64$) decît numărul aminoacizilor (20) a dus la ideea că mai multe unități de cod (doi sau mai mulți tripleți) pot codifica același aminoacid. De pildă, arginina este codificată de codonii CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, și AGG.

Sistemul de codificare a unui aminoacid particular de mai mult decît o unitate de cod a fost numit în limbajul de specialitate *cod degenerat* (*cod genetic degenerat*). Degenerarea este însă relativă, deoarece codonii au o eficiență diferită în procesul biosintezei proteice. De exemplu, codonii CGU și CGC au o eficiență deosebită în poziționarea argininei în lanțul polipeptidic, în timp ce codonul CGA are o eficiență redusă iar codonul CGG este aproape inactiv, probabil datorită cantității în exces de guanină.

Degenerarea se referă tocmai la faptul că unitățile de cod au degenerat spre 20 grupe de tripleți de baze,

care fiecare în parte poate codifica acelaşi aminoacid. De aici rezultă faptul că numai anumite schimbări (mutaţii) în una din cele trei litere ale tripletului pot cauza schimbări în poziţionarea aminoacizilor în lanţul polipeptidic şi deci să modifice structura primară a proteinei (să se formeze codoni missens); de exemplu, substituirea în tripletul CGU, care codifică arginina, a bazei C cu baza A determină tripletul AGU care codifică aminoacidul serina. Alte schimbări de baze în codon nu schimbă sensul, deoarece noua unitate de cod poate poziţiona acelaşi aminoacid în proteină. De exemplu, substituirea în tripletul CGU a bazei U, cu baza C, cu baza A sau cu baza G, duce la apariţia unor tripleţi care ca şi CGU codifică tot aminoacidul arginina. Degenerarea codului reprezintă în această direcţie un avantaj pentru celulă.

Din cele prezentate rezultă că în codon, importanţa nucleotizilor este variabilă, fiind determinată de poziţia ocupată de aceştia. Astfel, primul şi al doilea nucleotid din codon au un rol semnificativ, schimbarea (mutaţia) lor putînd duce la apariţia unor codoni missens, în timp ce pentru majoritatea codonilor al treilea nucleotid are un rol minor, putînd fi înlocuit fără ca aceasta să schimbe sensul codonului (fac excepţie codonii pentru triptofan, metionină şi, în general, pentru aminoacizii codificaţi de puţinii codoni). De exemplu, dacă a treia bază este o purină ea poate fi înlocuită cu altă bază purinică (adenina cu guanina şi invers), iar dacă este o pirimidină ea poate fi înlocuită cu altă bază pirimidinică (citozina cu uracil şi invers). Într-o serie de codoni este posibilă chiar înlocuirea de pe poziţia 3 a unei purine cu o pirimidină şi invers, fără ca aceasta să reprezinte o mutaţie.

Cercetările lui *M. W. Nirenberg* (1963) au relevat că leucina este codificată de şase tipuri de poliribonucleotizi sintetici şi anume unii alcătuiţi din uracil şi adenină (poly-UA) sau uracil şi guanină (poly-UG) sau din citozină şi uracil (poly-CU), iar alţii din CUA sau CUG. O serie de investigaţii cu acelaşi obiectiv au evidenţiat la bacteria *Escherichia coli* două tipuri de *s*ARN cu rolul de a activa şi transfera leucina la com-

plexele *m*ARN-ribozomi. Unu din aceste tipuri de *s*ARN în a cărui anticodon se găsesc bazele azotate adenină și citozină, descifrează codonul UUG din *m*ARN, iar celălalt tip de *s*ARN cu un anticodon alcătuit din guanină și adenină, descifrează codonul CUU din *m*ARN. S-a demonstrat astfel faptul că, în general, pentru fiecare aminoacid există în citoplasmă cîteva tipuri de *s*ARN care realizează activarea și transferul aminoacidului respectiv, precum și decodificarea mesajului genetic în procesul biosintezei proteice. Aceste descoperiri au contribuit la fundamentarea ideei că, codul genetic este degenerat. În cadrul acestor cercetări s-a stabilit faptul că într-un caz sau două *codul este nedegenerat*, iar un codon codifică doar un singur aminoacid, de exemplu, codonul UGG codifică aminoacidul triptofan, iar codonul AUG codifică metionina.

Codonii nonsens UAA, UAG și UGA, denumiți și „codoni stop", îndeplinesc rolul de a marca capătul genei și ca urmare, ei indică terminarea lanțului peptidic. Acești codoni nu sînt decodificați de molecule caracteristice de *s*ARN pentru terminarea lanțului peptidic, ci de anumite enzime specifice sau factori de eliberare (o enzimă este specifică pentru UAA și UAG, iar alta pentru UAA și UGA). În cazurile cînd unii codoni suferă mutații nonsens (de exemplu, dacă în UCA și UCG care semnifică serina se substituie C cu G, respectiv C cu A în ambii codoni, rezultă codoni nonsens; în primul caz UGA, iar în cazul al doilea UAA și UAG), are loc întreruperea descifrării mesajului și, ca urmare, se produce terminarea lanțului și eliberarea de pe poliribozomi a unui polipeptid incomplet. În general, aceste lanțuri peptidice incomplete sînt inactive biologic, fapt ce face ca mutațiile non sens apărute în gene cu importanță vitală să fie letale și deci ușor detectabile.

În 1961, *M. W. Nirenberg* și colaboratorii săi au realizat sinteza artificială a proteinelor virusului mozaicului tutunului. În experiență, ARN de la VMT a fost plasat într-un sistem acelular de *Escherichia coli*. În acest sistem, ARN-viral a îndeplinit rol de *m*ARN (de matrice pentru sinteza unor proteine specifice vi-

rale, fapt pentru care molecula de ARN-viral se fixează pe ribozomi proveniţi din celule bacteriene).

În ultimul timp a fost realizată sinteza în sisteme acelulare a unei mari deversităţi de proteine virale şi bacteriene.

Din analiza rezultatelor acestor cercetări a reieşit că aminoacizii din compoziţia oricăror proteine sînt codificaţi de aceiaşi codoni, indiferent de organisme şi de poziţia acestora pe treapta evoluţiei. Totodată a fost demonstrat faptul că mesajul genetic conţinut de moleculele de *m*ARN produse de către orice specie, au proprietatea în urma introducerii în sisteme celulare libere provenite de la oricare altă specie să iniţieze şi să producă sinteza unor proteine specifice. Din aceste experienţe a reieşit concluzia *universalităţii codului genetic*, a cărui cifru este cunoscut şi descifrat de întreaga lume vie. În celulă se află aşadar un „dicţionar" alcătuit din 64 de cuvinte de cod cu ajutorul cărora s-a scris şi se va scrie imensa carte a naturii vii, cu tot ceea ce este cunoscut sau încă nu este cunoscut.

Caracteristica de universalitate a codului genetic a fost dovedită prin studiul proteinelor biosintetizate în sisteme celulare libere, provenite de la bacterii şi de la mamifere, sub influenţa unor mesageri ARN artificiali. S-a constatat că indiferent de originea sistemului celular liber, în prezenţa aceluiaşi mesager ARN artificial se obţin aceleaşi proteine, fapt care constituie un argument important că *aminoacizii ce intră în alcătuirea proteinelor respective, sînt codificaţi de aceiaşi codoni.*

DETECTAREA CODONILOR SPECIFICI. Prin experienţele efectuate, în 1961, de către *M. W. Nirenberg* şi *J. H. Matthaei*, s-a reuşit sinteza unei proteine cu ajutorul unor poliribonucleotizi sintetici cu o compoziţie cunoscută în sisteme celulare libere. Experienţele au constat în folosirea unor extracte acelulare stabilizate de *s*ARN, ribozomi şi enzime de *Escherichia coli*, precum şi unele molecule de ARN sintetic ce conţineau numai uracil, numit *acid polyuridilic* sau *poly-U* şi amestecuri de aminoacizi. În fiecare amestec unul dintre aminoacizi conţinea carbon radioactiv C^{14}. După incubarea

acestui amestec s-a constatat că poli-U a determinat polimerizarea sau „incorporarea“ aminoacidului fenilalanina într-un lanţ polipeptidic omogen, *polifenilalanina*.

În cazul cînd ARN sintetic a fost *poly-C* (*acidul polycitidilic*) a avut loc polimerizarea aminoacidului

Prima literă	A doua literă: U	C	A	G	A treia literă
U	Phe. UUU	Ser. UCU	Tyr UAU	Cys. UGU	U
U	Phe. UUC	Ser. UCC	Tyr UAC	Cys. UGC	C
U	Leu UUA	Ser. UCA	Ochre UAA	Nonsens UGA	A
U	Leu UUG	Ser. UCG	Amber UAG	Try UGC	G
C	Leu. CUU	Pro. CCU	His. CAU	Arg. CGU	U
C	Leu. CUC	Pro. CCC	His. CAC	Arg. CGC	C
C	Leu. CUA	Pro. CCA	Gln. CAA	Arg. CGA	A
C	Leu. CUG	Pro. CCG	Gln. CAG	Arg. CGG	G
A	Ile. AUU	Thr. ACU	Asn. AAU	Ser. AGU	U
A	Ile. AUC	Thr. ACC	Asn. AAC	Ser. AGC	C
A	Ile. AUA	Thr. ACA	Lys. AAA	Arg. AGA	A
A	Met. AUG	Thr. ACG	Lys. AAG	Arg. AGG	G
G	Val. GUU	Ala. GCU	Asp. GAU	Gly. GGU	U
G	Val. GUC	Ala. GCC	Asp. GAC	Gly. GGC	C
G	Val. GUA	Ala. GCA	Glu. GAA	Gly. GGA	A
G	Val. GUG	Ala. GCG	Glu. GAG	Gly. GGG	G

Fig. 18. Codul genetic şi structura codonilor specifici.

prolina, iar în cazul *poly-A* (*acid polyadenilic*) a fost încorporat aminoacidul *lizina* etc. Utilizarea unor copolimeri cu compoziţie mixtă (*poly-AC*, *poly-CA*, *poly-AU* etc.) şi cu proporţii definite în cadrul copolimerului a permis detectarea structurii codonilor care s-au ataşat de ribozomi şi au îndeplinit rolul de matrice în sinteza unor proteine (fig. 18).

Utilizarea polimerilor ARN sintetici şi a altor metode a permis să se stabilească compoziţia tripleţilor specifici sau „*dicţionarul cuvintelor*“ care codifică diferiţii aminoacizi.

BIOSINTEZA PROTEINELOR

Procesul de biosinteză proteică a fost studiat utilizînd bacteriofagi din seria T (T2 și T4,) care infectează *Escherichia coli*. După cum s-a stabilit, în celula bacteriană pătrunde doar molecula de ADN-viral, în timp ce învelișul proteic viral rămîne în afara membranei celulare bacteriene. În interiorul celulei bacteriene, ADN-viral comandă producerea unor substanțe proprii. Astfel, se observă că odată cu creșterea cantității de ADN-viral crește conținutul de hidroximetilcitozină, bază care la viruși înlocuiește citozina din lanțul ADN. Însă *E. coli* nu conține hidroximetilcitozină. S-a emis atunci ipoteza că ADN-viral servește ca matrice pentru producerea unui ARN de tip viral, necesar sintezei unor proteine proprii cu rol enzimatic ce catalizează producerea hidroximetilcitozinei.

Din experiențele efectuate cu ajutorul unor izotopi radioactivi s-a ajuns la concluzia că ADN-viral (din virusul T2 și T4) îndată după ce a pătruns în bacterie, produce un ARN cu structură complementară — ARN de tip viral (diferit de ARN bacterian). Acest ARN complementar ADN-viral, cu o viață foarte scurtă, a fost denumit de *F. Jacob* și *J. Monod* (1961) *ARN mesager* sau *mARN*. Odată produs, *m*ARN de tip viral se unește cu ribozomii bacterieni și le transmite informația conținută în ADN-viral determinînd producerea unor proteine virale specifice. Astfel, ribozomii bacterieni sînt „închiriați“ de ADN-viral prin *m*ARN, pentru a fabrica proteine virale.

Cercetările ulterioare au contribuit la confirmarea acestor observații și au elucidat o serie de detalii legate de procesul de sinteză proteică.

Biosinteza proteinelor include mai multe etape importante și anume:

I. *TRANSCRIPȚIA GENETICĂ*. Constă în sinteza *m*ARN avînd ca model (matrice) o catenă de ADN dintr-o cromatidă. Sinteza *m*ARN este catalizată de ARN-polimeraza, o enzimă universală care a

fost găsită în extrase celulare libere de la bacterii, celule vegetale și animale.

După sinteză, *m*ARN părăsește nucleul și trece în citoplasmă. Timpul de sinteză al *m*ARN este scurt (de exemplu, la bacterii, aproximativ cîte o moleculă pe secundă la nivelul unei gene), iar viața sa este de asemenea foarte scurtă, în funcție de tipul de celulă în care a fost sintetizat.

Aceeași catenă de ADN poate fi copiată, deci poate servi drept model, în mod repetat și, ca urmare, diversele segmente de *m*ARN produse de aceeași matrice sînt identice între ele. Astfel, segmentele de *m*ARN produse în aceeași porțiune a unei catene de ADN vor determina, practic, sinteza aceleiași proteine.

Tot după un sistem de transcripție genetică sînt sintetizate și celelalte două tipuri de ARN implicate în sinteza substanțelor proteice și anume *s*ARN și *r*ARN. Sinteza este catalizată de ARN-polimerază sau transcriptază (fig. 19).

Un proces de transcripție genetică se realizează și în cazul ARN-viral după pătrunderea într-o celulă-gazdă. În acest caz însă informația din molecula de ARN-viral se transcrie tot într-o moleculă de ARN care îndeplinește un rol similar *m*ARN.

II. *TRANSLAȚIA GENETICĂ*. Este procesul în care *m*ARN se asociază cu ribozomii în citoplasmă, iar codul genetic conținut în secvența nucleotizilor din *m*ARN este tradus într-o succesiune specifică de aminoacizi într-un lanț polipeptidic în timpul sintezei proteinelor. În celulele în plină activitate de sinteză se găsește un număr mare de ribozomi. (De exemplu, într-o celulă de *Escherichia coli* există circa 15 000 de ribozomi).

Trebuie menționat că, de exemplu, la *Escherichia coli*, în sinteza proteică sînt activi numai ribozomii cu constanta de sedimentare 70 S, alcătuiți din particule 30 S (în care *r*ARN reprezintă 16 S) și 50 S (în care *r*ARN reprezintă 23 S, restul fiind reprezentat de proteinele ribozomale).

După ajungerea în citoplasmă, catena de *m*ARN se fixează simultan, prin adsorbţie, pe mai mulţi ribozomi 70 S, la nivelul subunităţilor 30 S, rezultînd o

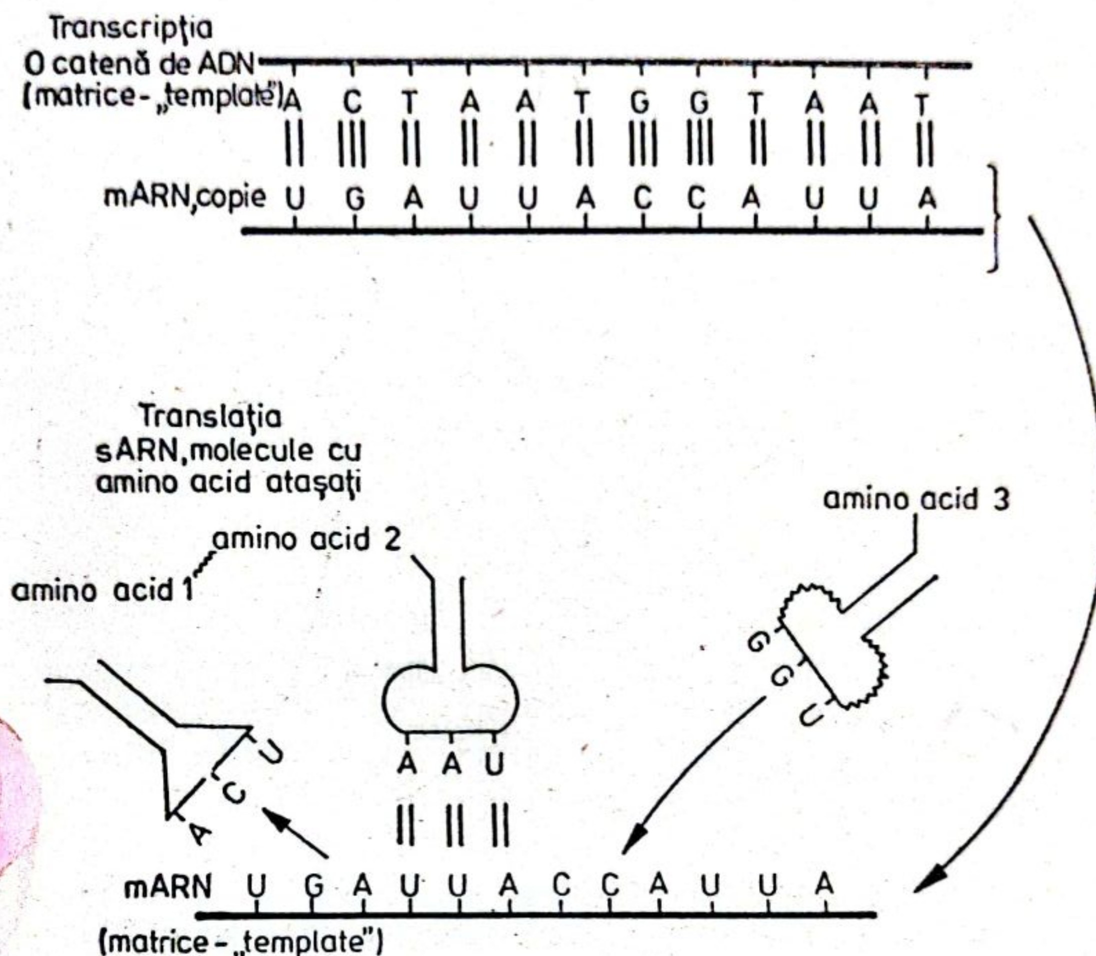


Fig. 19. Etapele principale ale biosintezei proteinelor: transcripţia (transcierea informaţiei din ADN în *m*ARN), translaţia, asocierea ARN-ului cu ribozomii, activarea şi transferarea aminoacizilor (după *Ph. E. Hartman* şi *S. R. Suskind*, 1965).

unitate funcţională, sau agregat ribozomic, denumit *poliribozom*, constituit dintr-o moleculă de *m*ARN şi mai mulţi ribozomi 70 S (fig. 20).

La organismele eucariote ribozomii activi în sinteza proteică au o constantă de sedimentare de 80 S (80±3 S la animale şi 80±1 S la plante, alcătuite din două subunităţi, una 40 S în care *r*ARN reprezintă 18 S şi una 60 S în care *r*ARN reprezintă 28 S).

S-a stabilit că în poliribozom există cîte un ribozom la fiecare 80 de nucleotizi din molecula de *m*ARN (la o distanţă între ribozomi de circa 300 Å).

Numărul ribozomilor din poliribozomi variază în funcţie de mărimea (lungimea) moleculei de *m*ARN şi de masa moleculară a proteinelor pe care le specifică.

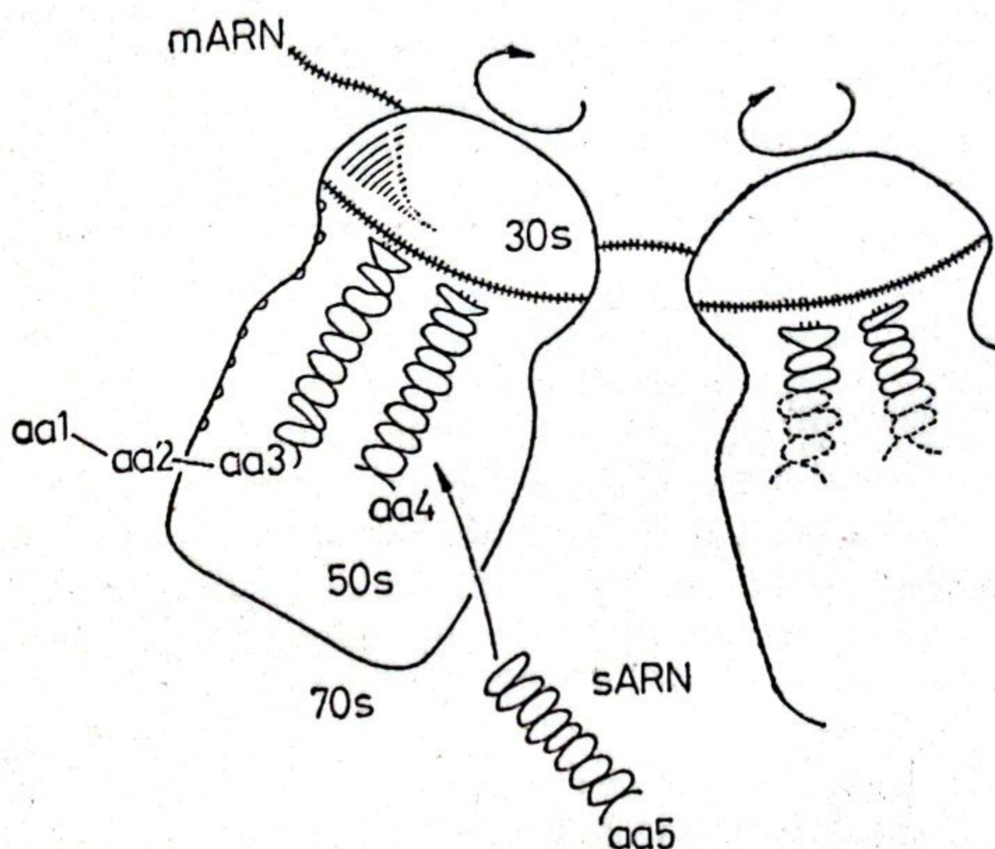


Fig. 20. Porţiune dintr-un poliribozom activ în biosinteza proteinei. Fiecare ribozom component 70S este mobilizat (se roteşte) pe matricea *m*ARN, asigurînd decodificarea succesivă a codului care determină asamblarea aminoacizilor în lanţuri polipeptidice (după *Ph. E. Hartman* şi *S. R. Suskind*, 1965).

Astfel, poliribozomii care sintetizează hemoglobina conţin 4–6 ribozomi, iar cei ce sintetizează proteine mai mari (cu masa de ordinul a 30 000–50 000, cu 300 pînă la 500 de aminoacizi) conţin 12–20 de ribozomi (*Watson*, 1974). Filamentul de legătură constituit din *m*ARN are o grosime de 10–15 Å (corespunzătoare grosimii monocatenei de *m*ARN).

La suprafaţa ribozomilor *m*ARN depune într-o anumită ordine informaţia genetică adusă de la ADN, iar după ce a servit ca matrice pentru sinteza proteinelor se depolimerizează pierzîndu-şi structura şi funcţia.

Prin ruperea catenei de *m*ARN starea de asociere a ribozomilor ia sfîrșit. Ribozomii vor putea fi reasociați de către altă moleculă de *m*ARN.

III. *ACTIVAREA AMINOACIZILOR.* Aminoacizii prezenți în mediul celular sînt activați prin reacția acestora cu adenozintrifosfatul (ATP). Reacția este catalizată de către *aminoacil ARN sintetaza* (enzimă activatoare specifică fiecărui aminoacid). Rezultă un *aminoacil adenilat* (aminoacil-AMP) care se atașează de o moleculă specifică de *s*ARN (ARN de transfer) sub influența aceleiași enzime (aminoacil ARN-sintetaza), rezultînd un complex aminoacil *s*ARN.

S-a stabilit că orice aminoacid activat poate fi atașat la cîteva tipuri de *s*ARN din citoplasmă și anume la atîtea cîte sînt adaptate să decodifice codul *m*ARN pentru aminoacidul respectiv. Această proprietate s-a format în timpul evoluției care a adaptat cele aproape 64 de tipuri de *s*ARN să formeze complexe active cu cei 20 de aminoacizi.

Rolul dublu al enzimelor specifice de a activa aminoacizii (formînd aminoacil adenilat) și de a transfera aminoacizii la un *s*ARN specific determinînd apariția complexului aminoacil *s*ARN asigură sinteza proteinelor. Din multitudinea de complexe aminoacil *s*ARN, care se găsesc în mediul citoplasmic, se vor fixa pe poliribozomi numai acele ale căror secvență de trei nucleotizi de la extremitatea buclată a *s*ARN (din regiunea de curbură) sau din anticodon este complementară codonilor din *m*ARN de pe poliribozomi. Complementaritatea între tripletul nucleotidic din regiunile de curbură ale *s*ARN (deci între anticodon) și codonii din *m*ARN asigură includerea aminoacidului pe care-l poartă complexul aminoacil *s*ARN în lanțul polipeptidic. Reacția dintre *m*ARN și *s*ARN constă de fapt în citirea, descifrarea sau decodificarea de către anticodonii de pe *s*ARN a codului *m*ARN, ceea ce duce în final la „poziționarea" aminoacizilor într-o succesiune specifică dictată de mesajul genetic purtat de *m*ARN (de poliribozomi).

IV. *POLIMERIZAREA SAU ASAMBLAREA AMINOACIZILOR.* Procesul constă în asamblarea

aminoacizilor între ei la nivelul poliribozomilor în urma căreia rezultă un lanț polipeptidic, o proteină primară. Asamblarea pe poliribozomi a complexelor aminoacil *s*ARN se face în prezența enzimei peptidpolimeraza, care catalizează formarea legăturilor peptidice între aminoacizi. Aminoacizii cuplați cu *s*ARN sînt poziționați în lanțul peptidic prin decodificarea codului genetic. În molecula *m*ARN există o succesiune de codoni (tripleți de nucleotizi) care se împerechează pentru timp scurt cu anticodonii (tripletele complementare) din *s*ARN. De exemplu, dacă în molecula de *m*ARN se află codonul AAA (adenină-adenină-adenină) el va fi recunoscut și va fi decodificat de anticodonul UUU (uracil-uracil-uracil) din molecula de *s*ARN. Un asemenea *s*ARN va fi cuplat cu aminoacidul lizina.

Sinteza lanțului peptidic începe cu grupul amino (NH_2) al primului aminoacid care expune grupul carboxil (COOH) spre cel de-al doilea aminoacid. În acest mod fiecare aminoacid nou se atașează de grupul carboxil al aminoacidului anterior cu ajutorul grupului amino (cu eliminarea unei molecule de apă). Creșterea lanțului se face cu o rată de circa doi aminoacizi pe secundă. De exemplu, sinteza unei catene de hemoglobină umană, ce conține 150 aminoacizi, durează 90 secunde.

După atașarea și realizarea legăturilor peptidice între aminoacidul nou și aminoacidul anterior molecula de *s*ARN este eliberată în citoplasmă. Aceeași moleculă de *s*ARN poate fixa apoi un nou aminoacid.

În general, lungimea unui lanț polipeptidic este egală cu lungimea poliribozomilor, respectiv sînt atîția aminoacizi încorporați cîți codoni are matricea *m*ARN (3 nucleotizi la un aminoacid). Uneori s-au observat și cazuri cînd aceeași matrice produce lanțuri polipeptidice de lungimi diferite (fapt ce poate fi determinat de mutația care produce un codon nonsens). Încorporarea aminoacizilor este reversibilă. Individualizarea sau eliberarea lanțurilor polipeptidice are loc prin translocarea ultimului complex aminoacil *s*ARN de ribozom, cînd acesta (ribozomul) a ajuns

în urma rotirii la extremitatea matricei *m*ARN de care se detașează.

Odată cu pierderea ribozomilor, molecula de *m*ARN se dezintegrează începînd de la extremitatea de atașare a ribozomilor. În general, viața *m*ARN este scurtă (de cîteva minute, timp în care are loc și biosinteza proteică).

Uneori, aceeași matrice *m*ARN sintetizează lanțuri polipeptidice heterogene, datorită existenței de-a lungul matricei *m*ARN a unor codoni care întrerup mesajul genetic și terminalizează sinteza lanțurilor polipeptidice.

Din cele menționate rezultă că sinteza proteică are loc la nivelul poliribozomilor, în citoplasmă. Întreg acest proces care determină creșterea și complicarea organismului este înscris în mesajul genetic.

REGLAREA SINTEZEI ȘI FUNCȚIEI PROTEINELOR

Celula se comportă ca un sistem autoreglat, foarte complex, cu un centru de comandă și control automat reprezentat de nucleu în care este stocată informația genetică. De la centrul de comandă sînt expediate în citoplasmă mesaje codificate, selecționate dintr-un anumit repertoriu, prin intermediul *m*ARN, care sînt decodificate la nivelul ribozomilor. Printr-un sistem enzimatic nucleul este în permanență informat despre evenimentele ce au loc în citoplasmă. Nucleul intervine în controlul activității celulare prin declanșarea, intensificarea sau stoparea producerii sau funcției unor proteine specifice. Cu cheltuieli de energie relativ mici, celula își adaptează procesele la necesități. În general, ea produce numai ce-i este util, în cantitățile necesare, la momentul oportun și ca răspuns la unele cerințe precise. S-a estimat că în citoplasma unei celule se petrec concomitent în fiecare fracțiune de secundă cel puțin 1 500 de reacții diferite, cu o exactitate și o precizie mult superioară celor mai perfecționate mașini cibernetice.

După cum a precizat *F. Jacob* (1972), coordonarea activităţilor chimice ale celulei presupune pornirea sau, dimpotrivă, oprirea lanţurilor de reacţii în raport cu condiţiile prezente. În acest proces agenţii executori trebuie să primească în permanenţă instrucţiuni privind propriile lor activităţi pentru ca ei să se poată adapta situaţiei. De asemenea, trebuie să se stabilească interacţiuni între constituenţi diferiţi ca structură, dar uniţi prin funcţie. Dialogul permanent între ceea ce trebuie făcut şi ceea ce se face determină în orice clipă activitatea fiecărui constituent.

În celulă, rolul de a percepe prezenţa anumitor compuşi şi de a acţiona ca semnale revine unor proteine, cu rol reglator, cărora structura le conferă proprietăţi speciale: de cataliză şi de fixare a unui compus diferit.

În funcţie de prezenţa sau absenţa acestui compus şi de concentraţia lui în celulă, proteina oscilează între două stări: activitate şi nonactivitate. Acest compus deci, prin variaţiile sale, modulează funcţionarea proteinei şi, implicit, a lanţului de reacţii din care ea face parte. El acţionează ca un semnal chimic pentru a pune proteina în poziţia „pornire" sau „oprire". Fără aceşti agenţi de cuplare, fără aceste *proteine reglatoare*, coordonarea celulei nu ar fi posibilă. Numai prezenţa acestor structuri realizează o reţea de comunicaţii între celulă şi mediu, între gene şi citoplasmă, între constituenţii lipsiţi de afinitate chimică.

Datorită proprietăţilor lor, diferitele proteine de reglaj descoperă prezenţa unui anumit metabolit în mediu. Reacţia la o asemenea descoperire este variabilă. De exemplu, dacă compusul descoperit este un zahăr, care poate furniza energie, prezenţa lui este marcată de sinteza unor enzime care-l degradează. Dacă, dimpotrivă, este descoperit un metabolit esenţial, celula încetează brusc sinteza enzimelor necesare producţiei metabolitului respectiv. Rezultă că printr-un lanţ de reacţii, agenţii executori din celulă sînt informaţi în orice clipă de către produsul final asupra rezultatului activităţii lor, pe care ei o adaptează în consecinţă.

Fiecare metabolit sintetizat de celulă își adaptează propria sa producție printr-un circuit de retroacțiune.

Asemenea circuite de reglaj funcționează în permanență pentru adaptarea funcțiilor la nevoile celulei și la starea mediului; pentru a ajusta activitățile catalitice în lanțurile de reacții; pentru a determina care din gene trebuie traduse în proteine; pentru a autoriza, o dată într-o generație și numai o dată, reproducerea cromozomului; pentru a coordona diviziunea celulei etc. Deci, proteinele au însușirea „să pipăie“ componentele chimice, „să sondeze“ compoziția mediului, „să perceapă“ cei mai variați stimuli specifici. Ele dețin „cunoașterea“ prin care se menține organizarea celulei. (*F. Jacob*, 1972).

Unul din mecanismele care asigură controlul activității genelor în sinteza proteinelor a fost descoperit de *F. Jacob* și *J. Monod*, în 1961, laureați ai Premiului Nobel. În lucrarea intitulată „Mecanismele genetice ale reglării sintezei proteinelor“, ei au prezentat *teoria reglării genetice*. În lucrare este demonstrat faptul că tipul (specificitatea) și rata proceselor celulare este reglată de activitatea unor gene specifice care controlează reacțiile biochimice individuale sau de un grup de gene asociate care controlează desfășurarea unei reacții particulare.

În celulă există diferite tipuri de enzime. Astfel, unele enzime sînt produse de către celulă în cantități fixe, independent de necesități (de condițiile de creștere și în absența unui inductor). Acestea se numesc *enzime constitutive*, iar genele care condiționează sinteza lor sînt *gene constitutive*.

În contrast cu acest tip sînt *enzimele inducibile* și *enzimele represibile*. Acestea fac parte din așa-numitele *enzime adaptive* și sînt sintetizate în prezența unor mesageri ARN produși de *gene reglatoare*. Cantitatea de enzime adaptive variază mult în celulă în funcție de schimbările din mediul celular. Astfel, *enzimele inducibile* sînt sintetizate numai în prezența substratului lor (a unui metabolit specific). În acest caz substratul acționează ca un inductor a sintezei enzimei (inducție enzimatică). În absența substratului gena reglatoare

este inactivă (nu se realizează transcripția și translația genetică). Majoritatea enzimelor inducibile au un rol catabolic, fiind implicate fie în degradarea unor substanțe provenite din mediu și utilizate ca sursă de energie, fie în producerea unor fragmente moleculare pentru procesele de biosinteză.

Enzimele represibile sînt prezente în mod normal în celulă. Producerea lor încetează cînd concentrația intracelulară a unor metaboliți crește (obișnuit produsele finale ale sistemului enzimatic; de exemplu, histidina este produsul final al enzimelor de biosinteză a histidinei). Acei metaboliți care sînt produși finali și a căror introducere într-un mediu de creștere reduce în mod specific cantitatea unei enzime determinate se numesc *corepresori*. Enzimele represibile, în general, au rol anabolic. Dacă nivelul unei enzime crește după înlăturarea metabolitului specific, fenomenul se numește *derepresie*.

Așa cum menționează *R. Rieger* și colaboratorii (1968), în sistemele represibile, represorul este inactivat de efector (denumit în acest caz *corepresor*) și, ca urmare, sinteza proteică de către genele structurale din operonul dat este inhibată (are loc represia expresiei genei).

În sistemele inducibile represorul este inactivat de către efector (denumit în acest caz *inductor*) și, ca urmare, are loc derepresia și genele structurale ale operonului dat produc sinteza proteică specifică datorită transcripției și translației genetice (are loc derepresia expresiei genei).

Represia, inducția și *retroinhibiția enzimatică* sau *inhibiția prin feedback* sînt mijloace prin care celulele se pot adapta la mediu.

INDUCȚIA ENZIMATICĂ este un mecanism cu ajutorul căruia celula sintetizează enzimele necesare metabolizării unor substanțe. Prin aceasta se realizează o *adaptare a aparatului enzimatic* al celulei la condițiile de mediu. Inducția enzimatică se realizează numai în condițiile prezenței în mediu a substratului sau *inductorului*, iar enzimele corespunzătoare lor au fost denumite *enzime inducibile* sau *inductibile*.

De exemplu, dacă în loc de glucoză în mediul nutritiv al bacteriei *Escherichia coli* se pune galactoză, în scurt timp bacteria reuşeşte să folosească acest nou substrat nutritiv, sintetizînd enzima β — galactozidaza, care degradează specific galactoza (deşi această bacterie creşte în mod obişnuit pe mediu cu glucoză). Noul substrat (galactoza) a funcţionat ca inductor, inducînd sinteza unei noi enzime.

REPRESIA ENZIMATICĂ este un mecanism opus inducţiei enzimatice, cu ajutorul căruia se realizează inhibarea sintezei proteice în prezenţa unui represor. De exemplu, în bacteriile lizogene, pe a căror cromozom este fixat un virus denumit profag — există o enzimă sau represor specific cu rolul de a bloca separarea şi dezvoltarea autonomă a profagului. Dar, în anumite condiţii, sub acţiunea unor factori externi, cum ar fi razele X, represorul poate fi inhibat şi, ca urmare, profagul se separă de cromozomul bacterian şi începe să se multiplice autonom pe seama echipamentului enzimatic din celula-gazdă şi, în final, să lizeze celula.

Represorul poate interacţiona atît cu un metabolit particular, denumit *efector*, cît şi cu o genă din aşa-numitul *operon*, denumită *operator*. Represorii blochează transcripţia genetică (din ADN în ARN) printr-o interacţiune directă cu gena operator (şi nu printr-o interacţiune cu *m*ARN sau *s*ARN). Interacţiunea între represor şi operator previne (inhibă) acţiunea aşa-numitelor *gene structurale* din operon.

RETROINHIBIŢIA ENZIMATICĂ sau *INHIBIŢIA PRIN FEEDBACK* constă în inhibarea sau blocarea activităţii unei enzime în urma interacţiunii cu produsul final al acesteia. Aşadar, produsul unei reacţii enzimatice poate inhiba reacţia respectivă. Cînd produsul este în surplus se declanşează mecanismul de inhibare al sintezei. Inhibarea încetează în momentul cînd produsul final este sub nivelul necesar. În cazul represiei enzimatice este inhibată sinteza enzimelor dintr-un sistem în timp ce în cazul retroinhibiţiei este

blocată activitatea primei enzime dintr-un sistem biosintetic.

În inhibiţia prin feedback substratul şi inhibitorul sînt diferite (*efect alosteric*). Astfel, inhibitorul specific şi substratul de legătură pot fi reprezentate de lanţuri polipeptidice diferite din enzima multicatenară. În contrast cu inhibiţia prin feedback, în cazul inhibiţiei prin represie enzimatică represorul este asemănător ca structură cu substratul (*efect izosteric*).

Fenomenul inhibiţiei prin feedback a fost relevat la bacteria *E. coli* de tip sălbatic. Astfel, dacă într-un mediu minimal cu glucoză se adugă izoleucină se constată o încetare imediată a transcripţiei *m*ARN necesar pentru sinteza enzimelor specifice ce catalizează biosinteza izoleucinei. Mai precis, concentraţia mare de izoleucină blochează activitatea enzimei implicate în prima treaptă a căii metabolice de biosinteză a acestui aminoacid, care porneşte de la treonină (→treonină→ α-cetobutirat → acetohidroxibutirat → dihidroxiizoleucină → α-cetoizoleucină → izoleucină). Deci, blocarea nu interesează decît prima etapă dintr-o cale metabolică, în care produsul final cu efect retroinhibitor este deseori separat şi deosebit de substratul (sau de produsul) enzimei care intervine în prima treaptă a sintezei sale. Datorită acestor deosebiri, este puţin probabil ca un produs final inhibitor să se combine cu centrul activ enzimatic de pe enzima pe care acest produs final o inactivează. De aceea, se consideră că produsul final s-ar combina reversibil cu o altă grupare de pe enzima dată care ar determina blocarea activităţii enzimei prin schimbări în structura acesteia (*transformare alosterică*). Proteinele, a căror configuraţie se schimbă prin fixarea unor molecule mici specifice pe alte grupări decît cea activă se numesc *alosterice*, iar moleculele mici fixate se numesc *efectori alosterici*. Dat fiind faptul că legăturile dintre inhibitorii retroactivi specifici şi proteine sînt slabe, inhibiţia prin feedback încetează rapid de îndată ce cantitatea produsului final scade sub un anumit nivel. (*J. D. Watson*, 1974).

Cercetările lui *F. Jacob* și alții (1960) la *Escherichia coli* au relevat faptul că *m*ARN este matrițat de un segment de ADN mai lung decît o singură genă. Un asemenea segment continuu de ADN care se întinde de-a lungul cromatidei și corespunde unui grup de gene, a fost numit *operon*. Operonul se comportă ca o unitate de *transcripție genetică* (produce o singură moleculă de *m*ARN) și *reglaj genetic.*

Modelul operonului de reglare a sintezei enzimelor inducibile și represibile la microorganisme este alcătuit dintr-o macromoleculă de ADN în care se află gene ce au funcții diferite în realizarea biosintezei proteice.

Un operon este alcătuit din patru componente:

— 1) un număr definit de *gene structurale* (*cistroni*), ce conțin informația genetică pentru sinteza unui lanț polipeptidic în structură primară (produsul primar al unei gene structurale este *m*ARN);

— 2) o *genă operatoare* sau *operator* situată în partea proximală a operonului, înainte de prima genă structurală. Această genă (operatorul), permite, sau nu, funcționarea genelor structurale, în funcție de condițiile din celulă și de starea în care ea însăși se află. Deci, în timp ce genele structurale dețin informația genetică care trebuie transcrisă și translată pentru sinteza proteică, gena operatoare conține o informație genetică necesară doar controlului și dirijării proceselor de transcripție și translație la nivelul ADN.

Gena operatoare poate exista în două stări: „deschisă" și „închisă". Cînd operatorul se găsește în stare deschisă, genele structurale din operon sintetizează *m*ARN și ca urmare se produce polipeptidul specific, în timp ce în stare închisă (cînd interacționează cu represorul), genele structurale nu produc *m*ARN și deci nu are loc sinteza proteică (la nivelul operonului în cauză);

— 3) o regiune specială denumită *promotor*, situată între operator și prima genă structurală. Promotorul reprezintă punctul de inițiere a sintezei *m*ARN. Deci, de promotor se leagă specific moleculele de ARN-

polimerază în procesul de transcripţie (sinteza *m*ARN) şi translaţie (sinteza proteică);

— 4) *gene reglatoare* (dominante), situate alături de gena operatoare. Produsul genei reglatoare este o substanţă proteică cu rol de *represor*, care acţionează asupra mecanismelor de represie și derepresie enzimatică. Represorul poate bloca gena operatoare și deci funcţionarea întregului operon. Dar, blocarea genei operatoare la rîndul ei, este condiţionată de legarea represorului de produsul final al căii metabolice considerate, numit *corepresor*, care poate fi un metabolit oarecare.

În sistemele inducibile represorul (R), este activ, acţionează cu O (gena operatoare), fapt ce face ca ARN-polimeraza să nu poată sintetiza *m*ARN de-a lungul genelor structurale.

În sistemele represibile, represorul (R′) este inactiv și absent de la O, fapt ce face ca ARN-polimeraza să inițieze transcripția *m*ARN. Prezența unor molecule cu greutate moleculară mică, denumite *efectori-F* (corepresori) poate determina interconversiunea celor două forme ale represorului. Astfel, în inducție, efectorul menține molecula represor într-o formă care este inactivă ca represor. În represie, efectorul intensifică conversia moleculei represor dintr-o formă inactivă într-una activă ca represor.

După cum s-a precizat celula conţine codificată informaţia genetică pentru totalitatea caracteristicilor viitorului organism. Aceste caracteristici se realizează în cursul vieţii individului odată cu citodiferenţierea morfologică și fiziologică a celulei și ţesuturilor, fiind rezultatul interacţiunii materialului genetic cu condiţiile de mediu în care se dezvoltă organismele.

CITODIFERENŢIEREA sau diferenţierea celulară, reprezintă o succesiune de procese complexe care se petrec în celula ou (zigot) și celulele embrionare în urma cărora rezultă o diferenţiere a funcţiilor și morfologiei celulelor descendente comparativ cu celula originară. Se formează pe această cale celule specializate.

În ontogeneză, citodiferențierea sau apariția unor tipuri distincte de celule este urmată de formarea țesuturilor, precum și de o perfecționare continuă a corpului printr-o diferențiere histologică și morfologică crescîndă, care duc spre dezvoltarea organismului. Așadar, celula-ou după un șir întreg de schimbări succesive dă naștere unor celule diferențiate capabile de a îndeplini funcții diverse, care se asociază în țesuturi și organe, formînd structuri din care treptat este generată arhitectura unui animal sau a unei plante.

Procesele de citodiferențiere și dezvoltare au loc sub controlul materialului genetic. Datorită acestui fapt, de la o generație la alta se repetă fără întrerupere și cu exactitate toate procesele de diviziune celulară, de diferențiere și de dezvoltare care determină în final apariția unui anumit sistem viu. În materialul genetic al celulei-ou se găsește întreaga potențialitate, proiectul organismului care urmează să se nască. În acest context, *ereditatea reprezintă tocmai capacitatea de reproducere identică a unor structuri și relații prin intermediul procesului de înmulțire.*

Citodiferențierea și dezvoltarea au loc în strînsă interacțiune cu mediul înconjurător. Inițial, celula-ou este implicată atît în înmulțirea cît și în realizarea schimburilor reciproce cu mediul. În aceste interacțiuni sînt implicate organitele citoplasmice specializate. Ulterior, prin citodiferențiere, apar ansambluri de celule armonios specializate eliberate de o serie de reacții ale organismului. Astfel, dintre ele unele sînt capabile de reproducere, sau altele devin răspunzătoare de integrarea ansamblurilor de celule, de percepția influențelor mediului, de hrană, de mișcare etc. Integrarea și coordonarea activităților ansamblurilor de celule, a organismului, prezintă o importanță aparte. Această funcție se realizează prin comunicarea între celule, fie prin contact direct, fie prin intermediul sistemului nervos și al hormonilor.

Așa cum precizează *F. Jacob* (1972), în cursul dezvoltării embrionare sînt traduse și executate progresiv instrucțiunile conținute în cromozomii oului. Dar, cu toate că prin diviziune fiecare celulă primește

o garnitură completă de cromozomi, deci aceleași gene, datorită specializării lor, diferitele celule produc diverse tipuri de mesageri și de proteine. Fiecare celulă nu traduce decît fragmente, cu toate că ea cuprinde întregul program. Celula nu execută decît anumite instrucțiuni. Există deci o succesiune riguroasă de evenimente chimice, în cursul cărora însuși modul de exteriorizare a genelor se modifică pe măsura diferențierii celulelor. În fiecare linie de celule, anumite segmente ale mesajului sînt activate sau inhibate, tocmai prin jocul circuitelor de reglaj. Aceste circuite de reglaj pe lîngă faptul că prezintă o mare complexitate, răspund și unor exigențe foarte diferite. Celula trebuie să-și mențină și ea starea diferită de echilibru, dar în egală măsură trebuie să-și coordoneze activitățile cu cele ale elementelor învecinate. Numai astfel organul respectiv este în măsură să-și îndeplinească funcțiile, care, la rîndul lor, sînt supuse sistemului de reglaj al întregului organism.

Se poate afirma deci că programul genetic nu prescrie doar planul diviziunilor celulare, ci el le impune și o anumită limită.

Se poate aprecia că procesul de citodiferențiere este determinat de o transcripție controlată și succesivă a informației genetice, ceea ce asigură o adaptare și diversificare a biosintezei proteice. Aceasta se datorează faptului că în ontogenia celulei, diversele gene intră în acțiune treptat, cronologic, într-o succesiune fixată în informația genetică în procesul evoluției.

SINTEZA ACIZILOR NUCLEICI „IN VITRO"

SINTEZA ADN „IN VITRO". O realizare importantă a geneticii moleculare a constituit-o sinteza ADN în afara nucleului, cu ajutorul enzimelor celulare. Sinteza ADN „in vitro" a fost realizată de *A. R. Kornberg*, în 1954 (laureat al Premiului Nobel pentru biochimie în 1959) și de *S. Ochoa* și *M. Grunberg-Manago*, în 1955.

Primii nucleotizi sintetici au fost obținuți în anul 1948 de către *A. R. Todd* (realizare pentru care a fost distins cu Premiul Nobel).

Plecînd de la elementele constitutive ale ADN, *A. R. Kornberg* a reușit să izoleze din extracte de *Escherichia coli* un sistem enzimatic cu capacitatea de a sintetiza un material cu proprietăți fizico-chimice identice cu ale acidului dezoxiribonucleic. Enzima izolată și folosită la sinteza ADN, denumită *ADN-polimeraza*, poate cataliza sinteza oricărui ADN, provenit de la specii foarte diferite. Pentru sinteza artificială a ADN mai sînt necesare și alte componente: dezoxiribonucleotizii celor patru baze azotate (dezoxiadenozintrifosfat, dezoxitimidintrifosfat, dezoxicitidintrifosfat și dezoxiguanosintrifosfat), ioni de magneziu (Mg^{++}) și o mică cantitate de ADN, folosit ca inițiator (*primer*) extras din celula vie și care determină secvența nucleotizilor în ADN-ul ce se sintetizează.

Sub acțiunea ADN-polimerazei și în prezența ADN inițiator în extractele de *E. coli* s-a declanșat „in vitro" sinteza polidezoxiribonucleotizilor. Unirea nucleotizilor prin legături fosfodiesterice are loc între grupările situate în pozițiile 3′, și respectiv 5′, iar alungirea catenei în direcția de la 5′ la 3′, deoarece nucleozid-trifosfatul reacționează numai cu capătul liber 3′ al lanțului pilinucleotidic în creștere. Produsul sintezei enzimatice este un ADN, care, ca și inițiatorul, are o structură bicatenară helicoidală cu un raport între baze similar celui al ADN inițiator. Faptul că în timpul sintezei ADN „in vitro" nu se detectează prezența vreunei proteine, demonstrează că ADN este purtătorul specificității genetice, și că de prezența lui în calitate de inițiator și matrice depinde propria lui sinteză. Totodată a fost demonstrat faptul că noile catene sînt complementare între ele și identice cu ADN inițiator.

Utilizarea metodei autoradiografiei a demonstrat faptul că sinteza ADN este semiconservativă. Astfel, polimerizarea nucleotizilor trifosfat (ATP, GTP, TTP și CTP) în noua catenă de ADN a avut aceeași ordine și frecvență, ca și în catena model, extrasă din celula

vie, indiferent de cantitatea diverșilor dezoxinucleotizi aflați în compoziția extractelor acelulare.

Cercetările efectuate asupra ADN sintetizat artificial au demonstrat că acesta nu prezintă activitate biologică. Lipsa activității biologice a fost pusă pe seama faptului că ADN-polimeraza conține mici cantități dintr-o altă enzimă și anume *dezoxiribonucleaza* care degradează parțial ADN. „In vivo", ADN-polimeraza, se pare că acționează în condiții absolut specifice care nu se pot realiza identic „in vitro".

Mai tîrziu, în anul 1968, *A. Kornberg* a reușit să sintetizeze artificial ADN-viral biologic activ identic cu ADN de la virusul $\varphi\times174$. (La bacteriofagul $\varphi\times174$ ca și la bacteriofagii S13 și F1 molecula de ADN este monocatenară și inelară).

Bacteriofagii ADN monocatenari la infecție introduc în celula gazdă o singură catenă de ADN activă biologic, obișnuit simbolizată „+". În bacterie, utilizînd echipamentul enzimatic al celulei gazdă, inelul monocatenar „+" este convertit într-un inel dublu circular prin sinteza unui inel complementar nou, obișnuit simbolizat „—". Această catenă „—" se constituie în matrice pentru producerea moleculelor monocatenare de tip „+" singurele care se învelesc în proteine virale și au capacitatea de a liza celula-gazdă și de a fi infecțioase.

În vederea sintezei „in vitro" a cromozomului circular al virusului $\varphi\times174$, au fost puși în contact în mediul de reacție ADN-polimerază, ADN monocatenar circular $\varphi\times174$ ca inițiator, precursorii nucleozidtrifosfatici și polinucleotidligază — enzimă care produce forma inelară. După incubarea amestecului s-a obținut sinteza unor catene monocatenare „—" pe catena inițiator „+" care formau un helix dublu circular. Prin utilizarea unei nucleaze a fost posibilă izolarea unui număr de catene noi „—". Aceste noi inele „—" au fost apoi utilizate ca matrice pentru producerea unor inele circulare intacte „+" biologic active cu însușirea de a iniția multiplicarea virală.

Cercetările lui *A. Kornberg* au o dublă importanță: în primul rînd, că a descoperit posibilitatea studierii

în laborator a mecanismului sintezei ADN; în al doilea rînd, că a demonstrat că sinteza ADN poate avea loc numai în prezența unui ADN preexistent, care, îndeplinește rol de model și care se găsește în stare monocatenară, datorită despiralizării prealabile a celor două catene de ADN.

Sinteza artificială de ADN are implicații extrem de importante. Astfel se poate realiza sinteza de ADN tipic pentru diverse microorganisme. Sinteza „in vitro" a ADN va avea urmări dintre cele mai interesante și pentru organismele superioare, inclusiv pentru om. Amintim doar faptul că ADN-ul produs artificial ar putea fi utilizat în primul rînd în scopul substituirii unor segmente cu alele mutante nedorite sau chiar dăunătoare. Astfel, la om, prin folosirea unor bicatene de ADN produse artificial pe baza unei matrici normale, ar putea fi corectate unele dintre bolile metabolice cum este diabetul. Administrarea de ADN apare posibilă prin intermediul unor viruși nepatogeni care pătrunzînd totuși în celule pot îndeplini rolul de vectori.

Utilizarea acestui mecanism sau a altora în măsură să asigure includerea în anumite celule a unor segmente de polidezoxiribonucleotizi, creează speranța că într-un viitor apropiat „genele defecte", vor putea fi reparate sau substituite de gene artificiale cu funcții normale.

SINTEZA ARN „IN VITRO". În stare naturală („in vivo"), după pătrunderea într-o celulă-gazdă, molecula monocatenară de ARN viral („+") se fixează pe ribozomii gazdei pentru a produce enzima *ARN — sintetaza* (*replicaza*) necesară propriei replicări. Apoi, molecula originară „+" se constituie în matrice pentru sinteza unei noi catene complementare monocatenare „—". Cele două catene formează un dublu helix complementar. După disociere fiecare din cele două catene monocatenare devenite libere se constituie în matrice: catena „+" pentru sinteza unei noi catene „—", iar catena „—" pentru sinteza preferențială a unor noi catene „+", singurele care sînt incorporate în particule-fiice și îndeplinesc rol de *m*ARN pentru sinteza proteinelor virale de înveliș (face excepție virusul ARN

monocatenal al stomatitei veziculare la care proteinele sînt sintetizate pe catena „ —“ deoarece *ARN-sintetaza* a fost produsă în ciclul de infecție virală anterioară și însoțește la infecție catena „ +“).

Moleculele de ARN celular (ARN implicat în sinteza proteică) sînt sintetizate în prezența enzimei *ARN-polimeraza* după o matrice de ADN din precursori reprezentați de nucleozidtrifosfați. Catenele de ARN sînt complementare matricelor polinucleotidice de ADN. Este necesară mențiunea că rarele greșeli care survin în transcripția ARN nu sînt transmise în generațiile celulare succesive, deoarece moleculele de ARN celular nu sînt capabile de autoreplicare. (*J. D. Watson*, 1974).

Pe baza cunoașterii mecanismelor sintezei ARN „in vivo“, a fost elaborată metoda de sinteză a ARN „in vitro“. Prima sinteză „in vitro“ a ARN a fost realizată de către *M. Grunberg-Manago* și *S. Ochoa*, în anul 1955. Componentele mediului de reacție au fost: ribonucleotizii sub formă de nucleotizi difosfați, enzima ARN-fosforilaza, și ioni de magneziu.

Alți cercetători (*A. Stevens*, 1960; *J. Hurwitz* și col., 1962, *P. Burgess* și col., 1969 ș.a.) au utilizat pentru sinteza „in vitro“ a ARN enzima *ARN-polimeraza*. Această enzimă așa cum s-a precizat polimerizează nucleozidtrifosfați și acționează în prezența ADN matrice.

Cercetări numeroase au relevat faptul că polimerizarea ARN are loc prin ruperea legăturilor de hidrogen și separarea celor două catene de ADN urmată de formarea în porțiunea respectivă a unei catene complementare de ARN. Cercetările au arătat că „in vivo“ numai una din catenele de ADN este copiată.

Demonstrarea acestui fapt (că matricea pentru sinteza ARN este o monocatenă de ADN) a fost posibilă printre altele prin utilizarea pentru sinteza „in vitro“ a ARN, a ADN de la virusul $\varphi \times 174$ la care ADN este monocatenar (și nu bicatenar ca la toate celelalte organisme) și a ARN-polimerazei.

Cercetările „in vitro“ au arătat că enzima ARN-polimeraza care există practic în toate celulele, își poate îndeplini misiunea de a cupla ribonucleotizii între ei

catalizînd formarea legăturilor fosfodiesterice 3′—5′ între nucleotizi, numai în prezența unei catene de ADN care trebuie să asigure alinierea precursorilor nucleotidici în ordinea corectă. În experiențele în care a fost utilizat ADN viral monocatenar ca matrice în prezența ARN-polimerazei produsul sintezei enzimatice era un poliribonucleotid complementar. Această monocatenă de ARN rămîne legată de catena de ADN matrice cu care formează un helix dublu hibrid ADN-ARN (cele două catene se eliberează după ce ARN-polimeraza depășește în cursul deplasării ei regiunea corespunzătoare de pe matrice). Rezultă că transcripția ARN după ADN se desfășoară cu o precizie la fel de mare ca și replicarea semiconservativă a ADN.

Descoperirile privind sinteza „in vivo" și „in vitro" a ADN și ARN relevă că mecanismele fundamentale sînt aceleași: în ambele cazuri sînt utilizați nucleozidtrifosfați, o enzimă și o matrice polinucleotidică. (*J. D. Watson*, 1974).

IZOLAREA GENEI. În ultimul deceniu, cercetările de genetică moleculară s-au amplificat permițînd obținerea unor realizări extrem de valoroase din punct de vedere teoretic și practic. Una dintre aceste realizări o constituie *izolarea genei*.

Prima comunicare despre izolarea unei gene datează din 1969 și a fost realizată de un colectiv de cercetători americani condus de *J. Beckwith*. Gena izolată provine de la *Escherichia coli*.

Bacteria *E. coli*, organismul cel mai bine cunoscut la nivel molecular, are un singur cromozom (neînvelit în membrană nucleară) de formă circulară, în care sînt localizate aproximativ 3 000 de gene. Acțiunea de izolare a genei a avut ca obiect *operonul lac* care intervine în metabolizarea lactozei. Operonul *lac*, pe lîngă gena reglatoare (*i*) cu care este asociat, posedă o genă operatoare (*o*), un promotor (*p*) și trei gene structurale: *gena z* (produce enzima β-galactozidaza), *gena y* (produce enzima β-galactozidpermeaza) și *gena a* (produce enzima galactozidacetilaza). În procesul de transcripție ARN-polimeraza se leagă de *promotor* care

precede *operatorul* de unde începe sinteza moleculei unice de *m*ARN și care transcrie mesajul celor trei gene structurale. Din analiza proteinelor produse a reieșit că deși unică molecula de *m*ARN codifică o cantitate inegală de proteine. Astfel, se produc mult mai multe copii de β-galactozidază decît de β-galactozid-permează sau de galactozidacetilază, și anume în raportul $1 : \frac{1}{2} : \frac{1}{5}$.

Cunoașterea acestor aspecte precum și a faptului că în cromozomul de *E. coli* într-o regiune adiacentă a operonului *lac* se integrează cromozomul bacteriofagului temperat λ sau φ 80, iar în alt punct apropiat în locul de inserție al factorului F (al epizomului) are loc ruperea cromozomului circular Hfr, a dus la concluzia că *operonul lac* poate fi prelevat din cromozomul bacterian. Această idee a fost concretizată prin izolarea ulterioară din *operonul lac* a unui segment cu genele *o*, *p* și *z*. Deci izolarea genei s-a bazat pe o serie de acțiuni complexe, ce implică fenomenele de transducție și sexducție precum și o serie de operații fizice și chimice (denaturare, ultracentrifugare, renaturare și hidroliza ADN bacterian).

Această realizare de o excepțională importanță oferă posibilități extrem de mari pentru a studia „in vitro" structura și funcția unei gene. Totodată, izolarea genei creează condițiile necesare pentru aplicarea chirurgiei la nivel intragenic în scopul schimbării sau ameliorării controlate a funcției unei gene particulare.

SINTEZA ARTIFICIALĂ A GENEI este de asemenea extrem de importantă pentru știință și practică. Prima genă a fost sintetizată artificial de către *H. G. Khorana*, în 1970. În urma acestei sinteze s-a obținut o secvență de ADN alcătuită din 77 nucleotizi cu o structură similară genei matrice pentru transcripția *s*ARN care activează și transferă alanina în sinteza proteică. Sinteza acestei gene s-a bazat pe obținerea unor secvențe scurte polinucleotidice care au fost legate între ele enzimatic.

În activitatea de sinteză artificială a primei gene

au fost utilizate descoperiri anterioare, și anume, descifrarea în 1964 a primei secvențe de nucleotizi dintr-un fragment specific de *s*ARN la drojdie care se atașează în mod specific de aminoacidul alanina (cu care formează molecule de aminoacil *s*ARN, de unde și denumirea de *s*ARN pentru alanină). Segmentul descifrat conține 77 nucleotizi. Astfel, prin cercetările lui *Khorana* a fost sintetizată artificial tocmai matricea pentru producerea acestui segment polinucleotidic.

Utilizarea unei metode oarecum similare a permis, în 1976, unei echipe de cercetători din Hamburg, R. F. Germania, condusă de dr. *Hubert Köster*, să sintetizeze o genă umană, gena ce controlează transcripția mesajului genetic, pentru producerea hormonului angiotensina II (polipeptid format din 8 aminoacizi), cu rol esențial în reglarea tensiunii arteriale și a contracției mușchilor netezi. Catena de ADN a noii gene conține doar 66 nucleotizi. Gena artificială este similară cu cea din organismul uman, și controlează ca și aceasta sinteza hormonului angiotensina II.

Genele artificiale vor putea fi transferate controlat prin metode adecvate în diverse celule. Dintre metode amintim transducția prin intermediul virușilor temperați, hibridarea parasexuală ș.a.

Genele produse artificial vor putea fi utilizate în tratarea unor deficiențe ereditare, prin eliminarea cauzelor acestora, deci a genelor mutante.

Sintetizarea artificială a genei creează premise deosebite de perfecționare a activității de ameliorare a animalelor și plantelor. Genele create în laborator, cu o acțiune cunoscută și utilă, vor putea fi incluse în mod controlat în anumite genotipuri în vederea creării unor soiuri de plante și rase de animale cu caracteristici superioare.

SINTEZA PROTEINELOR „IN VITRO"

O realizare de o mare importanță teoretică și practică o constituie sinteza proteică în sisteme acelulare. Sinteza proteică „in vitro" a fost obținută de *M. W. Ni-*

renberg și *J. H. Matthaei*, în 1961. Experiența a constat în folosirea unor extracte acelulare dintr-o populație de celule de *Escherichia coli*. Pentru obținerea extractelor acelulare stabilizate, membranele celulelor au fost distruse cu oxid de aluminiu, iar ADN a fost hidrolizat cu ajutorul enzimei dezoxiribonucleaza. În urma acestor măsuri în sistemele acelulare se găseau toate cele trei forme de ARN și anume: *m*ARN, *s*ARN și *r*ARN (în ribozomi), ribozomi, aminoacilsintetaze (enzime care activează aminoacizii legîndu-i de *s*ARN), peptidpolimeraze (enzime care catalizează formarea legăturilor peptidice între aminoacizi) și adenozintrifosfat (ATP, care furnizează energia necesară polimerizării aminoacizilor). Au fost utilizați aminoacizi marcați radioactiv (cu ^{3}H, ^{14}C sau ^{35}S).

Studiul încorporării aminoacizilor radioactivizați în lanțurile polipeptidice a relevat faptul că în primele cîteva minute sinteza „*in vitro*" decurge liniar după care ea încetează din cauza degradării catenelor de *m*ARN originare existente în extract (datorită hidrolizării ADN nu se mai produc noi catene de *m*ARN). Ca urmare, pentru reluarea sintezei proteice a fost adăugată în extract o nouă cantitate de *m*ARN.

Constatarea că *m*ARN, componentă a extractelor acelulare cu rol de matrice proteică, se consumă în timpul sintezei proteice și deci el trebuie furnizat treptat, a fost de cea mai mare importanță în stabilirea rolului *m*ARN, a locului și momentului sintezei sale în celule, precum și în posibilitatea utilizării ca matrice în extracte acelulare a unor *m*ARN adăugați din afară.

În experiențele lor, *Nirenberg* și *Matthaei*, au adăugat la extracte, *m*ARN sintetic. Acest fapt le-a permis să capete informații foarte precise despre codul genetic și să se stabilească codonii sau cuvintele de cîte trei litere sau baze azotate din nucleotizi (din cei 64 codoni posibili) care codifică un anumit aminoacid. Astfel, așa cum s-a mai arătat, prin utilizarea unor molecule de *m*ARN sintetic, ce conțineau numai uracil (numit *acid poliuridilic* sau *poly-U*), s-a observat că acestea (moleculele de *poly-U*) se fixează pe ribozomii liberi

(formînd *poliribozomi*) și sînt decodificate exclusiv de complexe *s*ARN-fenilalanină, determinînd sinteza unui lanț polipeptidic omogen alcătuit numai din fenilalanină (*polifenilalanina*).

Utilizarea în sisteme acelulare a unor poliribonucleotizi sintetici: *poly-U*, *poly-A*, *poly-C* și *poly-G* sau a unor copolimeri sintetici ce combinau în grupuri de cîte trei cele patru baze-litere: U, A, C și G, nu numai că a determinat sinteza „in vitro" a unor noi proteine, dar a permis și identificarea codonilor specifici.

Foarte interesante sînt și experiențele de adăugare la extractele acelulare (după consumarea *m*ARN originare) a unor molecule de ARN monocatenar prelevate de la viruși ARN. (Se știe că după infectarea unor celule molecula de ARN a particulei virale spre a se putea replica, acționează mai întîi ca moleculă de *m*ARN formînd cu ribozomii celulei parazitate poliribozomi pe care se produce o proteină-enzimă virală, ARN-sintetaza și numai după aceea, cu ajutorul enzimei virale, acționează ca matrice pentru propria replicare.) De exemplu, prin adăugarea la un sistem acelular de *E. coli* a unor molecule de ARN de la virusul mozaicului tutunului (VMT) sau de la bacteriofagul *F*2 s-au obținut proteine specific virale, care aveau secvențe de aminoacizi identice cu cele ale proteinelor sintetizate „*in vivo*". De aici s-a tras concluzia că în sistemele acelulare codul genetic poate să fie descifrat cu toată exactitatea (*Watson*, 1974).

În ultimii ani, în sisteme acelulare, au fost sintetizate alături de diverse proteine virale și bacteriene, și unele proteine caracteristice celulelor eucariote. Astfel, a fost sintetizată hemoglobina (în extracte acelulare din reticulocite sau celule roșii imature; molecula de hemoglobină umană conține 141 de aminoacizi), insulina (moleculă ce conține 51 de aminoacizi) ș.a.

S-a constatat că sinteza proteică în sisteme acelulare provenite de la mamifere este mult mai redusă comparativ cu aceea care are loc în extractele acelulare bacteriene.

EVOLUȚIA SUBSTANȚEI EREDITARE

Universalitatea codului genetic ca o caracteristică fundamentală a unității materiei vii presupune că tot ceea ce trăiește astăzi pe Pămînt provine în mod nemijlocit dintr-un singur strămoș, dintr-o singură picătură de viață originară.

Organismul inițial, sau strămoșul tuturor organismelor actuale, a fost reprezentat, probabil, de o structură cu atributele unui „nucleu". În această structură, trebuie să presupunem că asociația celor cîteva molecule îndeplinea rolul de acizi nucleici, enzime, membrane, compuși macroergici care realizau funcții caracteristice vieții.

După cum menționează *F. Jacob* (1972), faptul că fenomenele vieții apar numai într-un sistem organizat și că „mesajul genetic nu poate fi tradus decît de produșii propriei sale traduceri", a ridicat în fața cercetării biologice două probleme esențiale și anume:

1 — care dintre polimeri, cel nucleic sau cel proteic, are dreptul de a fi socotit primul?

2 — care este originea codului genetic?

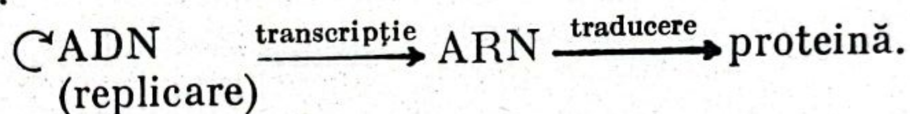
La prima problemă răspunsul poate fi numai unul și anume că fenomenul vital nu poate fi conceput în absența unuia sau altuia dintre acești polimeri. Așa cum preciza *F. Jacob*, fără acizi nucleici proteinele nu au nici o perspectivă, iar fără proteine acizii nucleici rămîn inerți. Ca urmare, trebuie admis faptul că acești polimeri coexistau într-un mediu pregătit de multă vreme să organizeze într-un sistem unitar evoluția chimică spre evoluția biologică.

Cu privire la originea codului genetic trebuie admis că el nu a putut apărea dintr-odată, ci reprezintă rezultatul unei lungi evoluții, singura capabilă să stabilească corespondența precisă, univocă, dintre fiecare grup de trei subunități nucleice și fiecare subunitate proteică. Sigur este că în sita selecției naturale au ajuns infinite perechi întîmplătoare între subunități nucleice și subunități proteice, dar ea a favorizat echivalențele: un triplet de nucleotizi — un aminoacid.

Odată apărute, aceste echivalențe, au fost fixate, prin ereditate și transmise ca atare, de la organismul viu originar pînă la organismele actuale.

Selecția naturală a perfecționat sistemul în celulă, care este cea mai simplă unitate vie capabilă să se reproducă, în sensul că ADN (depozitarul informației genetice și singurul capabil să se constituie în matrice pentru propria lui replicare; face excepție ARN-viral) nu servește în mod direct ca matrice pentru specificarea secvenței aminoacizilor din proteine.

Așa cum s-a arătat, informația genetică din ADN este transferată prin transcripție unor molecule de ARN, care vor servi la rîndul lor ca matrice intermediare pentru ordonarea secvențelor de aminoacizi. Poziția ARN în raport cu ADN și cu proteinele este considerată ca „*dogma centrală a geneticii*“ și este exprimată prin formula:



Săgețile indică sensul în care este transferată informația genetică. Săgeata care încercuiește ADN semnifică faptul că el însuși constituie matrice pentru propria lui replicare. Săgeata dintre ADN și ARN arată că toate moleculele de ARN din celulă se formează pe matrice de ADN; face excepție ARN-viral. În mod analog, toate secvențele proteice sînt determinate de matrice de ARN. Faptul că ultimele două săgeți sînt unidirecționale, înseamnă că secvențele de nucleotizi din ARN nu pot fi copiate niciodată de pe matrice de proteină, după cum ARN nu funcționează niciodată ca matrice pentru ADN (*J. D. Watson*, 1974).

În decursul a mai bine de trei miliarde de ani, selecția naturală a direcționat viața spre organismele evoluate actuale. Aceasta a fost posibilă în urma evoluării înseși a sistemelor genetice datorită schimbării programelor genetice, atît cantitativ cît și calitativ. Codul genetic și „dogma centrală“ nu s-au schimbat. S-a modificat însă frecvent și a evoluat informația genetică și ca urmare, și conținutul mesajelor transmise în ARN și respectiv în expresia proteinelor. Aceasta

înseamnă că s-a schimbat și complicat genotipul, în principal prin schimbări calitative cauzate mai ales de alungirea programului genetic, datorită unei creșteri considerabile și bruște a cantității de ADN. Astfel, în timp ce secvența nucleică bacteriană are o lungime de numai un milimetru, fiind alcătuită din circa 20 000 000 de nucleotizi, secvența nucleică umană are o lungime de aproape doi metri și conține cîteva miliarde de nucleotizi.

Schimbarea genotipului determină o altă expresie a organismului, un nou fenotip și o intensificare și amplificare a interacțiunilor acestuia cu mediul. Or, intensificarea schimburilor dintre organism și mediu este o trăsătură ce caracterizează evoluția.

Referindu-se la procesul evoluției genetistul francez *F. Jacob* (1972) subliniază că pe măsură ce organismele se complică, se complică și reproducerea lor. Apare o întreagă serie de mecanisme care, bizuindu-se întotdeauna pe hazard, concură la reasortarea programelor genetice și obligă la schimbare. Iată aceste mecanisme: dispersarea programului genetic pe mai mulți cromozomi; prezența fiecărui cromozom nu într-un singur exemplar, ci în două exemplare în fiecare celulă; alternanța fazelor cu una sau cu două garnituri cromozomice în decursul ciclului vital; segregarea independentă a cromozomilor; recombinarea prin fragmentarea și regruparea cromozomilor homologi etc. La acestea se adaugă alte două mecanisme de maximă importanță: sexul și moartea. (Sexul transformă radical sistemul genetic și posibilitățile de variație, deoarece reproducerea nu mai constă din copierea exactă a unui singur program, ci prin regruparea a două programe diferite, care de la o generație la alta adîncește diversitatea genetică, variabilitatea. Moartea cea naturală este caracteristică organismelor pluricelulare animale — la monocelulare fisiunea binară, iar la plante înmulțirea vegetativă înlătură moartea —, care nu este lăsată la voia întîmplării ci este programată genetic, intervenind după reproducerea pe cale sexuată ca o necesitate inexorabilă a înlocuirii vechiului cu noul, a elementului conservator, cu cel revoluționar; selecția

naturală nu admite prelungirea vieții mult peste momentul reproducerii, face excepție parțială omul).

Cercetările de genetică moleculară au făcut posibilă cunoașterea cauzelor care determină variabilitatea genotipică. Pe această bază s-au făcut o serie de progrese în relevarea mecanismelor intime ale evoluției.

Analiza organizării materialului genetic arată că organismele pot fi clasificate în două mari grupe: *procariote* și *eucariote*.

MATERIALUL EREDITAR ȘI VARIABILITATEA GENETICĂ LA PROCARIOTE

Din grupul organismelor procariote fac parte: virușii, molicuții, bacteriile, actinomicetele, algele albastre. La aceste organisme, mai puțin evoluate, lipsește membrana nucleară, iar materialul genetic este concentrat într-o regiune numită *nucleoid* sau *nucleoplasmă*; genele sînt localizate într-un grup linkage echivalent cromozomului (de la eucariote) denumit *genofor*.

VIRUȘII. Sînt paraziți la nivel genetic, care se replică numai într-o celulă-gazdă. Particula virală este alcătuită dintr-o macromoleculă de acid nucleic monocatenară sau bicatenară și un înveliș proteic, numit *capsidă*, formată din unități elementare — *capsomere*. Numărul capsomerelor este specific pentru diverși viruși.

Spre deosebire de celule care, conțin atît ADN cît și ARN, virușii conțin un singur tip de acid nucleic. Ca urmare, virușii se clasifică în două grupe și anume: *ribovirusi*, a căror material genetic este reprezentat de acid ribonucleic — ARN, cum sînt: virusul gripal, virusul poliomielitic, virusul mozaicului tutunului, diverși bacteriofagi (F2, R17 ș.a.) etc. și *adenoviruși* a căror material genetic este reprezentat de acid dezoxiribonucleic — ADN, cum sînt: principalele grupe

de bacteriofagi (din seria T ș.a.), virusul variolei, virusul herpesului, unii viruși oncogeni etc.

Acizii nucleici virali au structuri asemănătoare omologilor lor celulari. Astfel, la majoritatea adenovirușilor studiați pînă în prezent, de exemplu virusul

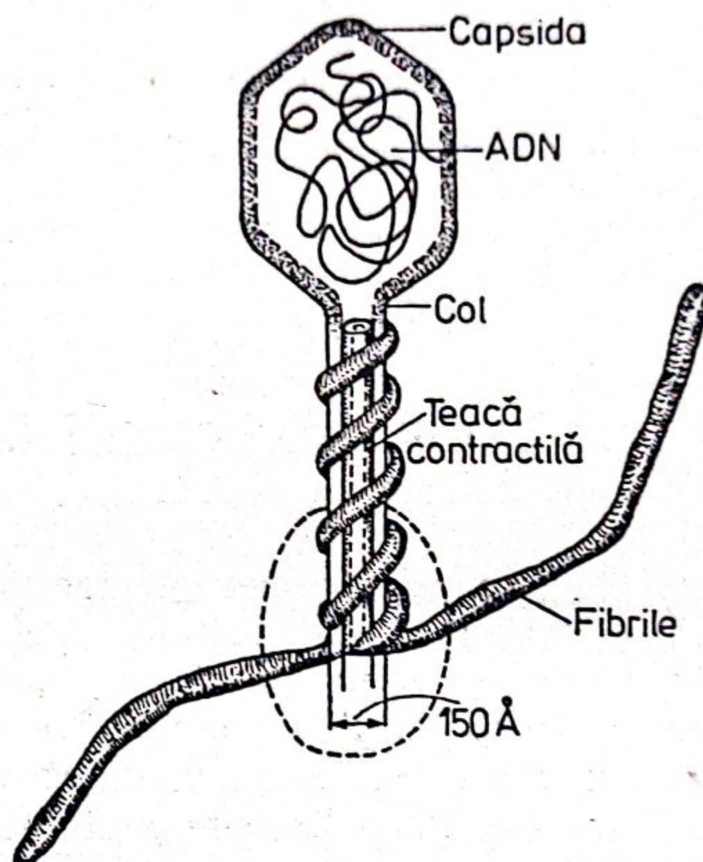


Fig. 21. Structura bacteriofagului T2 care parazitează bacteria *Escherichia coli*.

variolei, virusul poliomei și grupul de bacteriofagi T2, T4, T6 (viruși care infectează bacteriile), molecula de ADN are o structură bicatenară helicoidală (fig. 21).

La ribovirușí, de exemplu, la virusul mozaicului tutunului (VMT), virusul gripal și virusul poliomielitei precum și la bacteriofagii F2 și R17, molecula de ARN este monocatenară. Există și unii adenoviruși cum sînt cîteva grupuri de fagi, de exemplu $\varphi \times 174$ și F1 (M13), la care molecula de ADN este monocatenară. După cum există și un grup de viruși ARN, așa-numiții *reoviruși*, la care ARN apare într-o formă dublu-helicoidală, cu catene complementare.

Este important de reținut faptul că la ambele tipuri de viruși (adenoviruși și riboviruși), informația genetică se află inclusă într-o singură moleculă de acid nucleic. Numărul de nucleotizi conținut de acizii nucleici virali este diferit. De exemplu, molecula de ARN din VMT conține aproximativ 6 000 de nucleotizi, incluși în 3—5 gene. Molecula monocatenară de ARN la bacteriofagii de tip F2, reprezintă o secvență de circa 3 300 nucleotizi care poate codifica circa 1 100 aminoacizi. Bacteriofagii de tip F2 sînt cei mai simpli viruși cunoscuți.

Virușii sînt foarte variabili în privința mărimii moleculei de acid nucleic. Astfel, ribovirusul VMT conține în cromozomul său 3—5 gene, bacteriofagul $\varphi \times 174$ cu o moleculă de ADN monocatenară, conține 8 gene, iar unii megaviruși 200—300 gene. La unii viruși molecula de acid nucleic are o formă circulară, la alții, liniară. Mărimea virușilor este cuprinsă între 200 Å și 2 500 Å.

Ciclul de viață al virușilor așa-numiți *virulenți* și denumit *ciclu litic*, este, în general, alcătuit din momentele următoare: *faza de repaus* sau de *fag matur* (în afara bacteriei), *faza de adsorbție* și *infectare* (particula virală este adsorbită la suprafața celulei-gazdă, în care este injectată molecula de acid nucleic viral), *faza vegetativă* sau *de eclipsă* (în care cea mai mare parte a capacității de infecție este pierdută și în care molecula de acid nucleic servește la producerea unei proteine-enzime timpurii și a unor copii prin replicare), faza de *fag matur* (molecula de acid nucleic viral se include în capsula proteică) și *faza de liză* (distrugerea celulei-gazdă). (fig. 22).

După pătrunderea cromozomului viral în celulă are loc dezintegrarea ADN din celula-gazdă, sub influența enzimei dezoxiribonucleaza sintetizată pe baza *m*ARN transcris de pe molecula de acid nucleic viral. Apoi are loc sinteza noilor molecule de acizi nucleici virali și a proteinelor virale. Sinteza replicativă a acizilor nucleici virali și a proteinelor virale se desfășoară prin utilizarea substanțelor, energiei, ribozomilor și a sistemului enzimatic existente în celula-gazdă. La sfîrșitul

fazei de *virus vegetativ* are loc asamblarea moleculei de acid nucleic viral cu proteinele virale. Urmează faza de *virus matur* care apare după asamblarea (învelirea) moleculelor de acid nucleic viral cu proteinele

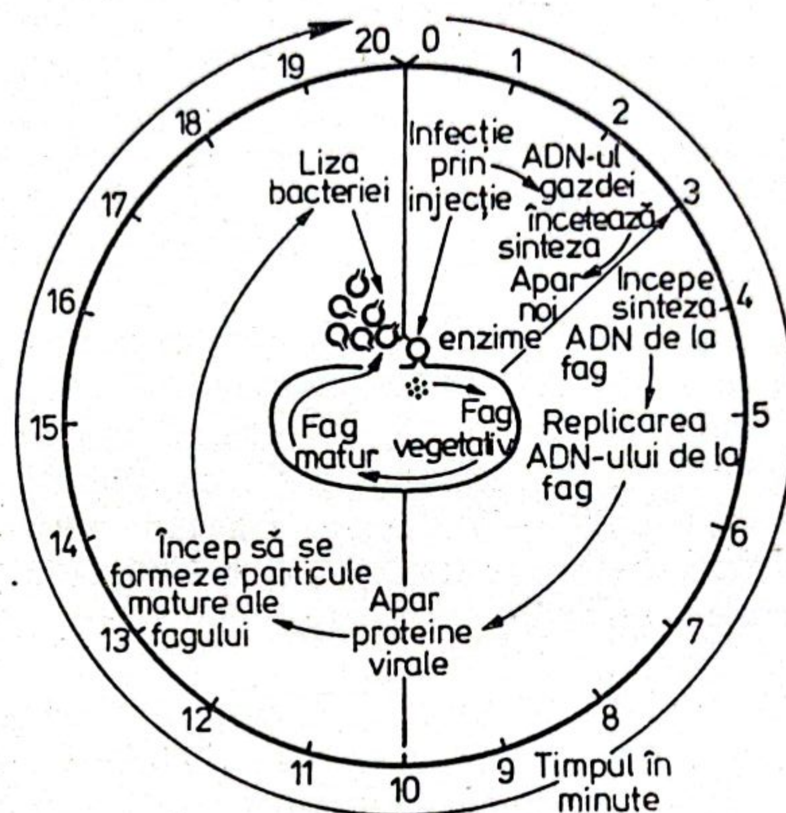


Fig. 22. Ciclul vital al bacteriofagului virulent T2. După infecție și multiplicarea virusului are loc liza bacteriei.

virale de înveliş. Aceste noi particule virale sînt eliberate în urma *distrugerii* sau *lizării* celulei-gazdă.

Pe lîngă ciclul litic al viruşilor virulenţi şi care se încheie cu lizarea celulei-gazdă există şi un *ciclu lizogenic* produs de *viruşii temperaţi*. Studiul ciclului lizogenic la bacteriofagi a relevat faptul că după infectare molecula de acid nucleic virală este integrată într-o poziţie specifică a genoforului circular al bacteriilor cu care se replică sincronizat. Molecula de acid nucleic viral fixată în cromozomul bacterian se numeşte *profag*. Spontan sau prin iradiere, profagul se poate elibera din cromozomul bacteriei, devenind *fag vegetativ*. În această stare particula virală începe un ciclu litic care se încheie cu liza celulei-gazdă (fig. 23).

Spre deosebire de replicarea ADN-viral dublu catenar la care ambele catene după separare se constituie în matrice pentru o sinteză semiconservativă în urma căreia rezultă două molecule-fiice bicatenare

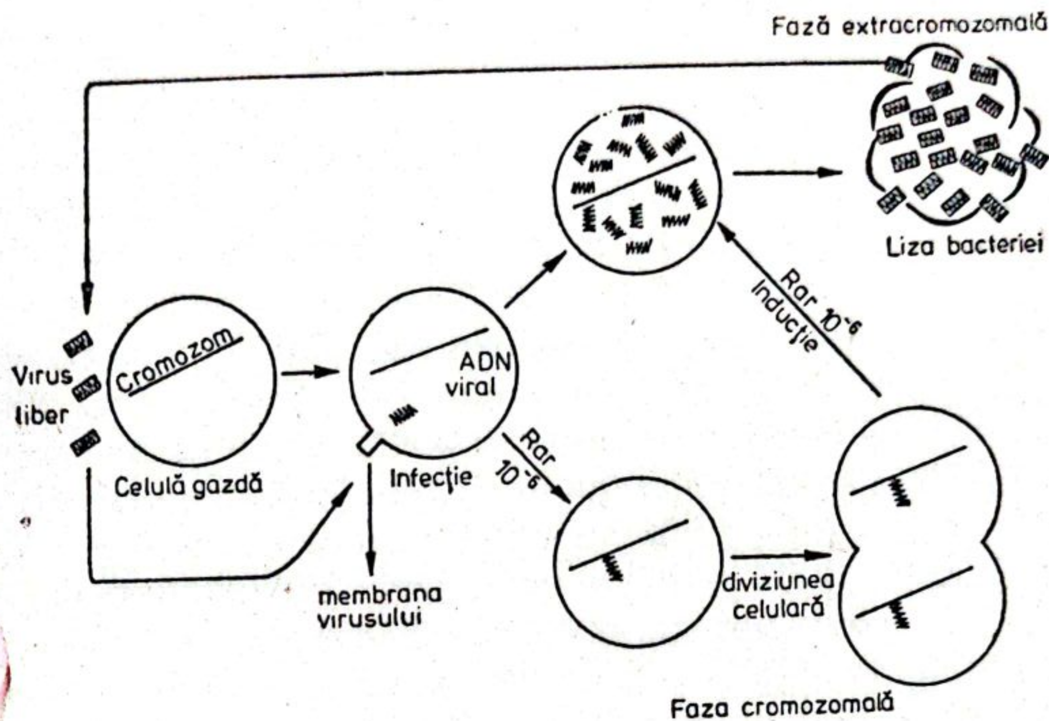


Fig. 23. Ciclul vital al unui bacteriofag lizogen. În unele cazuri bacteriofagul, după ce a infectat o celulă, începe să se multiplice imediat ca un virus virulent, transformă în profag, prin fixarea cromozomului viral în lizînd bacteria. În alte cazuri particula virală se transcromozomul bacteriei lizogene, cu care se divide sincron. Eliberarea cromozomului viral este un fenomen rar care are loc doar odată la 10 000 de diviziuni ale unei bacterii lizogene.

identice, în replicarea ADN-viral monocatenar intervin, aşa cum s-a mai arătat, unele mecanisme particulare. Astfel, la bacteriofagul φ×174, molecula de ADN-monocatenară inelară infectantă, simbolizată cu „+" după ce infectează celula-gazdă serveşte ca matrice pentru formarea unei catene complementare notate cu „—". Se formează astfel un ADN dublu catenar circular cu o catenă „+" şi una „—". Catena „—" serveşte ca matrice pentru reproducerea virusului φ×174

(catene monocatenare de tip „+“). Rezultă că replicarea moleculelor de ADN monocatenar urmează, în general, aceleaşi mecanisme ca şi în cazul ADN bicatenar.

Replicarea ARN-viral. În cazul ribovirușilor, molecula de ARN-viral îndeplineşte două roluri de matrice atît pentru producerea unor noi molecule de ARN-viral, cît şi pentru fabricarea proteinelor virale specifice (în acest al doilea caz, molecula de ARN-viral îndeplineşte un rol similar celui îndeplinit în celulă de *m*ARN).

Cercetările efectuate asupra ciclului de viață al unor ribovirusi de exemplu, a bacteriofagului F2, au demonstrat că după pătrunderea ARN viral în bacteria gazdă (*E. coli*), monocatena de ARN (de tip „+“) se atașează de ribozomi şi declanşează sinteza enzimei *ARN-sintetaza*, necesară replicării ARN-viral. Apoi, molecula de ARN, prin sinteza replicativă formează o catenă complementară „—“. Cele două catene alcătuiesc o bicatenă. Apoi, după replicarea catenelor „+“ şi „—“ începe şi sinteza unor molecule de proteine virale (unele catene „+“ îndeplinesc rol de *m*ARN). În final, are loc asamblarea elementelor virale: ARN+proteine, liza celulei-gazdă şi eliberarea a 1 000—10 000 de noi particule-fiice fagice.

Utilizarea unor protoplaşti obținuți din mezofilul frunzei de tutun, a permis studierea multor aspecte ale mecanismului de infecție, a modulului de replicare şi asamblare a componentelor virusului mozaicului tutunului (VMT). Aceste cercetări au fost efectuate de o echipă de virologi japonezi condusă de *J. Takebe* (1971).

În concluzie, se poate afirma că virușii nu se multiplică ca o celulă prin creştere şi diviziune, ci, numai într-o celulă-gazdă, prin producerea independentă a constituenților săi care prin asamblare formează particule virale noi. Aceste noi particule virale în afara unei celule-gazdă nu reprezintă decît o substanță organică

inertă, proprietățile viului fiind manifestate numai în sistemul celulă-virus.

Variabilitatea genetică la viruşi, se produce prin *mutații genice* şi *recombinări genetice*. Aceste mecanisme au diversificat plasma germinativă virală, alcătuită în prezent din numeroase specii, din care sînt cunoscute peste 500.

M u t a ţ i i l e g e n i c e determină apariţia unor stări alternative ale unei gene, denumite *alele*. La viruşi, pentru relevarea fenomenului de mutaţie au fost studiate frecvent plajele formate de diferite suşe de fagi, în special de bacteriofagii din seria T. Alte mutaţii sînt acelea care afectează capacitatea fagilor de a se fixa pe suprafaţa bacteriilor. Astfel, fagul T2 de tip sălbatic poate parazita şi liza suşa B de *E. coli*, şi nu se poate multiplica în suşa mutantă B2, deoarece mutaţia B2 modifică suprafaţa celulei bacteriene, împiedicînd ataşarea fagului T2. Unele particule mutante de fag T2 şi anume formele T2*h* pot totuşi să se multiplice pe suşa B2 fiind capabile de adsorbţie datorită faptului că aparatul lor de fixare este schimbat ş.a.

În general, au fost descoperite alele mutante la aproape toţi locii fagilor T4 şi λ precum şi la numeroşi alţi viruşi.

La virusul mozaicului tutunului, tratamentele cu acid azotos (HNO_2), la pH=5, au indus schimbări în molecula de ARN care s-au manifestat prin inactivarea majorităţii particulelor virale tratate. Particulele care supravieţuiesc, reprezintă mutanţi ce se pot identifica prin tipul diferit de efecte (mozaicuri) produse pe frunzele de tutun infectate.

Acidul azotos acţionează asupra unor secvenţe de nucleotizi din molecula de ARN, producînd schimbări în structura codonilor, care, ca urmare, vor codifica alţi aminoacizi.

R e c o m b i n a r e a g e n e t i c ă la viruşi are loc în condiţiile în care aceeaşi celulă este infectată simultan de doi sau mai mulţi viruşi deosebiţi genetic (infecţie multiplă sau mixtă).

Fenomenul de recombinare genetică la viruşi a fost relevat mai ales prin cercetările efectuate asupra bacteriofagilor. Aceste cercetări au evidenţiat faptul că în aceeaşi bacterie se pot multiplica simultan mai multe particule fagice deosebite genetic. Ca urmare, deoarece în celula-gazdă, cromozomii virali sînt liberi, ei au posibilitatea să realizeze o împerechere (stare cvasidiploidă), la nivelul căreia între aceşti cromozomi (aparţinînd unor particule virale diferite) poate avea loc fenomenul de schimb de material ereditar după un mecanism asemănător fenomenului de *crossing over*. Astfel, printre particulele descendente se poate constata existenţa unor particule cu recombinaţii genetice.

Un exemplu de recombinare genetică a fost observat la bacteriofagul T4. La acest virus există o suşă care diferă de tipul sălbatic prin două alele mutante: una simbolizată h, care-i conferă posibilitatea să crească pe suşa B4 de *E. coli* (o suşă rezistentă la particulele de fag T4 de tip sălbatic); a doua simbolizată r, care determină formarea de plaje mai mici şi mai clare decît cele produse de particulele de fag T4 de tip sălbatic. Deci suşa dublu mutantă este simbolizată T4hr, iar tipul sălbatic T4h^+r^+. În cazurile în care o celulă de *E. coli* este infectată simultan cu un fag T4h^+r^+ şi cu unul T4hr, în descendenţă pot fi identificate patru tipuri de particule: genotipurile parentale h^+r^+ şi hr şi genotipurile recombinante hr^+ şi h^+r.

Mecanismul crossing overului la viruşi este în esenţă foarte asemănător cu cel produs în cromozomii meiotici. Este însă necesară precizarea că în timp ce, în meioza obişnuită fiecare pereche de cromozomi homologi intră în sinapsă o singură dată (în zigonem, profaza I), în cazul infecţiilor virale multiple, sinapsa (împerecherea) între cromozomii viruşilor deosebiţi genetic aflaţi într-o celulă-gazdă şi fenomenul de crossing over se pot produce în mod repetat în tot cursul perioadei cînd sînt cromozomi liberi (din momentul infecţiei şi pînă în momentul asamblării componentelor virale). Deci, un cromozom viral poate participa la mai multe cicluri de împerecheri şi de crossing over şi ca urmare poate suferi recombinare în mai multe

puncte implicînd segmente cromozomale nu numai de la doi, ci de la trei cromozomi virali deosebiți genetic.

Studiile efectuate au relevat faptul că frecvența recombinărilor este în funcție de mutanții utilizați în încrucișările respective. Uneori, în funcție de locii implicați (de distanța dintre loci), frecvența recombinărilor este de aproape 50%, alteori, frecvența este mică sau recombinările lipsesc.

Utilizarea frecvenței crossing overelor între diverși loci a creat condițiile necesare pentru alcătuirea hărților genetice la viruși. Mai completă este harta genetică a bacteriofagului T4, reprezentată grafic circular. S-a stabilit că cromozomul bacteriofagului T4 este format dintr-o moleculă bicatenară de ADN în care se găsesc circa 200 000 nucleotizi incluși în 56 de gene. S-a stabilit că regiunea r II cuprinde 2 000 nucleotizi. În această regiune, în care se află genele r II A și r II B ce controlează durata ciclului vital al fagului T4, *S. Benzer* (1969) a evidențiat 308 poziții mutaționale între care poate avea loc recombinarea. La rîndul ei, fiecare poziție mutațională este formată din aproximativ 7 perechi de nucleotizi. Ulterior, s-a demonstrat că mutația poate afecta doar o singură pereche de nucleotizi, nucleotidul fiind astfel, cea mai mică unitate ce determină mutație (în regiunea r II în care există între 1 000 și 1 500 poziții mutabile, au fost identificate peste 2 000 mutații independente).

Fenomenul recombinării genetice s-a evidențiat și la alți viruși, de exemplu, la virusul polio, gripal ș.a. Variabilitatea spontană a virușilor este determinată tocmai de recombinarea genetică și mutația genică. Izolarea unor tipuri recombinante și mutante permite producerea de vaccinuri cu viruși vii atenuați, care nu numai că nu determină îmbolnăvirea, dar au proprietatea de a stimula producerea anticorpilor necesari protecției organismului.

BACTERIILE. Cercetarea acestui grup de organisme procariote a avut o mare importanță pentru studiul materialului genetic la nivel molecular, contri-

buind la obţinerea unor descoperiri majore ale geneticii contemporane.

O celulă bacteriană este alcătuită din citoplasmă, delimitată de membrana citoplasmică protejată la exterior de peretele celular. În celulă se distinge o regiune centrală mai puţin densă, Feulgen pozitivă, ce reprezintă *nucleoidul* în care se află *genoforul* (cromozomul bacterian). În citoplasmă (la *E. coli*) sînt diverse organite, printre care 20 000—30 000 ribozomi dispuşi în agregate (poliribozomi), precum şi un „mezozom" reprezentînd o pliere a membranei celulare care serveşte la ataşarea cromozomului bacterian. Bacteriile sînt haploide.

Cromozomul bacterian are o formă circulară (inelară), neînchis în interiorul unei membrane nucleare. El este format dintr-o singură moleculă de ADN lungă de aproape un milimetru şi care conţine aproximativ 10 milioane nucleotizi avînd o masă moleculară de $2-4 \times 10^9$. În celulă, există o enzimă (de tipul polinucleotidligazei) care realizează reunirea extremităţilor moleculei de ADN, asigurîndu-i o structură inelară.

În general, bacteriile au un singur cromozom, deci au un singur grup linkage sau grup de înlănţuire. Ca urmare, toate genele de la bacteria-mamă se transmit în bloc la bacteriile-fiice.

În cursul diviziunilor rapide (în timpul creşterii exponenţiale) fiecare celulă poate conţine între doi şi patru cromozomi bacterieni. Aceşti cromozomi, fiind rezultaţi din replicarea succesivă a unui singur cromozom, posedă aceleaşi gene şi deci aceeaşi informaţie genetică.

La cromozomul bacterian replicarea începe într-un punct fix, situat aproape de gena H a argininei (dispusă în apropierea mezozomului). Replicarea este catalizată de enzima ADN-polimeraza. Se formează astfel doi cromozomi-fii identici cu cel iniţial. În timpul replicării, cromozomul bacterian îşi păstrează forma circulară. Intrarea în funcţiune a unui punct de replicare inhibă toate celelalte puncte potenţiale de replicare.

Din cele menţionate rezultă că macromolecula de ADN a cromozomului bacterian este capabilă de a se

replica sub controlul propriu efectuat de o regiune scurtă specifică denumită *replicator* de unde începe replicarea. Deoarece molecula de ADN bacterian funcţionează ca o unitate, a fost denumită *replicon.* Datorită acestui fapt replicarea începe într-un punct de iniţiere, este continuă şi se desfăşoară progresiv pe ambele catene pînă se produce separarea a doi cromozomi bacterieni circulari.

În citoplasma celulelor bacteriene, în afară de cromozomul circular sînt prezente şi alte particule de material genetic mai mici, denumite *epizomi.* Aceştia sînt alcătuiţi dintr-o singură moleculă de ADN dublu catenar, de formă circulară. Epizomii au putut rezulta în cursul evoluţiei din cromozomul bacterian, sau pot avea o origine exogenă realizînd cu celula bacteriană un fel de simbioză.

Epizomii nu sînt constituenţi esenţiali ai celulei bacteriene. Ei pot exista în două stări alternative: *integrat* în cromozomul bacterian cînd se reproduce sincron cu acesta (asemenea celule manifestă o *ridicată frecvenţă de recombinare* — *„high frequency of recombination“* — şi ca urmare sînt simbolizate Hfr), şi *autonom*, cînd se reproduce independent de cromozom. Epizomii sînt factori de transfer (*conjugoni*) care pot trece dintr-o celulă în alta în timpul conjugării, fie independent de genom (cum sînt: F-episomul sau factorul de fertilitate, factorul colicinogenic şi factorul de transfer a rezistenţei; datorită faptului că aceşti epizomi în stare liberă se replică independent de cromozomul bacterian au fost denumiţi *repliconi* sau *dupliconi*), fie integrat în cromozomul bacterian cînd transferă gene de la o celulă la alta.

Denumirea de *epizom* indică atît factorul F de la bacterii cît şi cromozomul fagilor lizogeni (temperaţi).

Variabilitatea genetică la bacterii. Materialul genetic la bacterii poate fi afectat de *mutaţii* genice spontane sau induse experimental, precum şi de *recombinare genetică.*

M u t a ţ i i l e la bacterii pot afecta capacitatea lor de a sintetiza anumiţi aminoacizi. De exemplu, *E. coli* de

tip sălbatic se înmulţeşte bine pe un mediu de creştere minimal deoarece are capacitatea să sintetizeze diverşii aminoacizi necesari. Se cunosc suşe mutante de *E. coli*, care, ca urmare a unor mutaţii specifice, nu se pot înmulţi pe mediu minimal decît dacă acesta este suplimentat cu un anumit metabolit specific. Pentru identificarea mutaţiilor, organismele mutante se cultivă pe diverse medii de cultură atît în prezenţa, cît şi în absenţa diferiţilor aminoacizi. Astfel, au fost descoperiţi mutanţi care nu mai au capacitatea de a sintetiza threonina, arginina, triptofanul ş.a. ca urmare, asemenea bacterii nu se mai pot înmulţi decît dacă se adaugă în mediul de creştere aminoacidul pe care nu-l pot sintetiza.

O altă categorie importantă de mutaţii afectează rezistenţa bacteriilor la antibiotice. Obişnuit, celulele de *E. coli*, nu sînt rezistente la streptomicină, chiar unele cantităţi mici sînt letale. Uneori însă, în urma unor mutaţii apar descendenţi rezistenţi la anumite concentraţii de streptomicină (str^+). Au fost descoperite mutante rezistente şi la alte antibiotice.

Tot în urma mutaţiei pot apărea suşe de bacterii rezistente la infecţia cu bacteriofagi. De exemplu, la suşa B de *E. coli*, a apărut o mutantă rezistentă faţă de fagul T1 (celulele mutante au fost denumite B1), la fagul T2 (B2) la T4 (B4).

Diverse alte mutaţii afectează capacitatea unor celule de *E. coli* de a utiliza unele zaharuri ca lactoza, galactoza sau maltoza, ca urmare se pierde capacitatea de a utiliza unul sau altul dintre aceste zaharuri ca unică sursă de carbon.

Izolarea de mutanţi dependenţi de factorii de creştere, precum şi de mutanţi rezistenţi la antibiotice sau la fagi a permis să fie efectuate experienţe care au relevat existenţa fenomenului recombinării genetice (deci a unui proces sexual) la bacterii.

R e c o m b i n a r e a g e n e t i c ă la bacterii are loc prin mecanisme caracteristice cum sînt: *transformare, conjugare* şi *transducţie*.

Transformarea la bacterii reprezintă o schimbare indusă prin incorporarea într-o celulă receptor a unui ADN purificat, diferit structural, denumit ADNT (ADN-transformator) provenit de la un alt organism (genom donor). Fenomenul a fost descoperit între anii 1920 și 1928 de *F. Griffith* la bacteria *Diplococcus pneumoniae*. O sușă din această specie care este patogenă și produce pneumonie, după ce a fost omorîtă prin căldură, a fost adăugată la o suspensie formată dintr-o sușă de pneumococi vii, nepatogeni. Analiza descenților obținuți a relevat faptul că bacteriile virulente omorîte determină apariția patogenității la o mică proporție din bacteriile vii, inițial nevirulente.

Reluînd această experiență, *O. T. Avery*, *C. M. MacLeod* și *M. McCarty*, în 1944, au stabilit că agentul care a determinat transformarea bacteriilor nevirulente vii în direcția substratului alcătuit din bacterii virulente omorîte este *acidul dezoxiribonucleic*, *ADN*. Ei au considerat că ADN de la donator este inclus în materialul genetic al receptorului printr-un proces de recombinare genetică, care a constat în înlocuirea unei secvențe de nucleotizi. Descendenții sușei devenite patogene, la rîndul lor, au proprietatea să transforme alte bacterii nepatogene. Pe baza rezultatelor acestor experiențe s-a formulat concluzia că materialul genetic al celulelor patogene omorîte prin căldură, nu suferă schimbări și ca urmare moleculele de ADN rămase nealterate, pot străbate peretele celular al bacteriilor vii și să se recombine genetic cu ADN-ul gazdei. ADNT realizează crossing over cu segmentul homolog din cromozomul bacteriei receptoare în timpul replicării, rezultînd în acest fel o moleculă de ADN recombinat. Rezultă că transformarea este în primul rînd un proces de recombinare genetică care are loc între cromozomii bacterieni ai unor sușe diferite. Se realizează astfel un transfer de informație genetică.

În general, la majoritatea bacteriilor frecvența procesului de transformare este sub 1%. Utilizarea fenomenului transformării bacteriilor a permis totuși ca la specia *Bacillus subtilis* să se stabilească poziția genelor în grupul linkage. La această specie nu a fost

descoperit încă un bacteriofag temperat care, pe baza studiului transducţiei genelor, să permită localizarea genelor.

Inducerea transformării la mamifere și, mai ales, la om, nu s-a soldat cu rezultate pozitive. Totuși s-a constatat că unii cromozomi virali au capacitatea de a transforma celulele normale în celule canceroase. Probabil că în acest caz nu este vorba de substituirea unei gene cu alta, ci introducerea în celulă a unui material genetic total nou cu proprietăţi cancerigene.

Conjugarea la bacterii poate fi considerată un proces sexual (asemănător cu cel de la organismele mai evoluate). Acest proces a fost descoperit și studiat de *J. Lederberg* şi *E. L. Tatum* (în 1946) la bacteria *E. coli*. Studiul bacteriei *E. coli* a relevat faptul că sușa de tip sălbatic sau *prototrof*, sintetizează toţi metaboliţii esenţiali (aminoacizi și vitamine) şi ca urmare se poate înmulţi pe mediu minimal (format din glucoză și săruri minerale). Mutanţii nutriţionali sau *auxotrofi* au pierdut capacitatea de a sintetiza substanţele nutritive necesare și ca urmare nu se pot înmulţi pe mediu minimal. Astfel, sușa A (cu genele marker *lM*) necesită pentru creştere un mediu de cultură cu adaos de leucină, iar sușa B (cu genele marker *Lm*) are nevoie de un mediu cu adaos de metionină. În cazurile în care aceste două suşe mutante sînt puse în cultură mixtă într-un mediu minimal din care lipseşte leucina și metionina, s-a observat apariţia unor colonii de tip sălbatic, care erau capabile să sintetizeze leucina și metionina. De aici s-a tras concluzia că în cultura mixtă a avut loc conjugarea bacteriilor, fenomen asemănător procesului sexual, care a determinat recombinarea genetică (fig. 24).

Așa cum s-a precizat, diferenţa de sex dintre celulele bacteriene este determinată de prezenţa unui factor genetic specific *epizomul* denumit *factor de fertilitate — F*. Celulele în care acesta este prezent (F^+) sînt mascule, iar cele din care el lipsește (F^-) sînt femele. Cînd factorul F este autonom, celulele F^+ sînt numai potenţial mascule, deoarece ele nu pot transfera genele lor unor celule F^-. Celulele mascule cu factorul F integrat în

cromozomul bacterian, conjugă cu celula femelă F− cu o mare frecvență (10^{-1}). Celulele F^+ care conțin factori de sex integrați au fost simbolizate Hfr (l. engl.

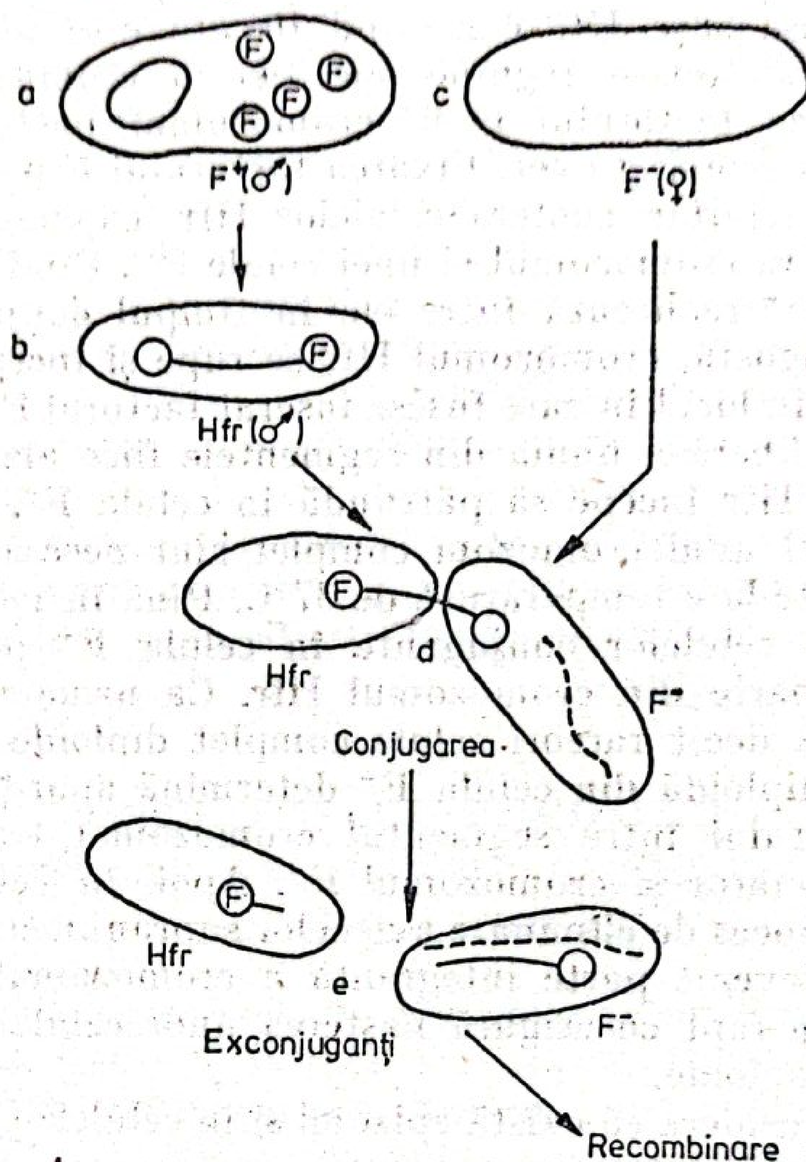


Fig. 24. Sexualitatea la *Escherichia coli:* a — celulă masculă cu un cromozom în formă de inel și epizomi (plasmide) care posedă factori ai fertilității F; b — celulă Hfr produsă prin atașarea unui factor F la cromozom; c — celula femelă (F−) cu cromozom neindicat; d — conjugarea și transferul unei părți din cromozomul Hfr în celula femelă (fără factorul F); e — exconjuganți care posedă segmente din cromozomul Hfr. Recombinarea apare la exconjugantul femel (F−) (după *R. P. Wagner* și *H. K. Mitchell*, 1964).

„high frequency of recombination“ — ridicată frecvență de recombinare).

Studiul diverselor bacterii a relevat existența a numeroase suşe Hfr conținînd fiecare cîte un factor F integrat într-o regiune specifică a cromozomului. Integrarea factorului F în cromozomul bacterian se face prin crossing over. Fixarea factorului F pe cromozomul bacterian conferă celulelor Hfr capacitatea de a transfera cromozomul ei unei celule F^-. Cînd celulele Hfr și F^- realizează între ele în timpul conjugării o punte îngustă, cromozomul Hfr se rupe și începe să se replice din locul în care fusese inserat factorul F. Extremitatea liberă a unuia din segmentele fiice ale cromozomului Hfr începe să pătrundă în celula F^-. Pentru transferul unui cromozom complet sînt necesare circa 90 minute la o temperatură de 37°C. Pînă în momentul separării celulelor conjugante în celula F^- pătrunde doar o parte din cromozomul Hfr. Ca urmare, nu se formează decît rareori celule complet diploide. Starea parțial diploidă din celula F^- determină apariția crossing overului între segmentul cromozomal transferat de la donator și cromozomul F^-. Apoi, în celulă are loc un proces de eliminare a genelor supranumerare care nu au devenit parte integrantă a cromozomului unic bacterian fapt ce asigură nașterea unor celule descendente haploide.

Se consideră că există epizomi și în celulele plantelor și animalelor superioare.

Transducția. Este mecanismul prin care genele bacteriene pot fi transferate în mod pasiv de la o bacterie la alta, prin intermediul unor bacteriofagi temperați. Fenomenul transducției are la bază faptul că la separarea sa de cromozomul bacterian, cromozomul bacteriofagului temperat (*a fagului transductant*) preia și o porțiune foarte mică (de obicei mai mică de 1—2%) din cromozomul fostei sale celule-gazdă. Aceasta face ca la infecția următoare să fie introdus în celula-gazdă, odată cu cromozomul fagic și fragmentul de cromozom bacterian preluat de la gazda anterioară.

În noua celulă, datorită homologiei, între fragmentul de cromozom bacterian adus și cromozomul celulei-

gazdă se realizează o structură diploidă la nivelul căreia poate avea loc un crossing over. Datorită transducției și crossing overului pot rezulta bacterii descendente care recombină material ereditar de la sușe bacteriene deosebite genetic.

Cercetările efectuate au arătat că este transferată o singură genă și numai rareori două gene alăturate.

Cu toate că transducția de material cromozomal de la o bacterie la alta prin intermediul bacteriofagilor temperați este un fenomen destul de rar, ea s-a dovedit deosebit de utilă pentru stabilirea distanței dintre gene apropiate și pentru determinarea precisă a succesiunii lor. Faptul este posibil deoarece numărul de gene bacteriene transferate de o singură particulă transductantă este mic, și ca urmare ea va putea să conțină doar gene situate foarte aproape una de alta.

MATERIALUL EREDITAR ȘI VARIABILITATEA GENETICĂ LA EUCARIOTE

Celula organismelor eucariote, în contrast cu celula procariotă, posedă un nucleu tipic învelit în membrană nucleară. În nucleu, materialul genetic este organizat în cromozomi. Caracteristic nucleului eucariotelor este diviziunea nucleară mitotică și meiotică, în timpul căreia cromozomii devin vizibili (la microscop).

În celula eucariotă, nucleul este delimitat de citoplasmă printr-o membrană nucleară dublă, iar în timpul ciclului celular, cromozomii prezintă o alternare tipică de spiralizare și despiralizare. În cromozomi, ADN este asociat cu proteine bazice.

În citoplasma eucariotelor se diferențiază organite cu rol bine determinat pentru o anumită funcție (mitocondrii, plastide, complex flagelar cu centrii de diviziune sau centrioli, reticul endoplasmic ș.a.).

Studiul unor organite din citoplasma eucariotă a dus la formularea părerii că saltul calitativ spre celula

eucariotă a fost determinat de ingerarea de către un anumit tip de procariote anaerobe a unor microorganisme aerobe, care printr-un proces de simbiozare s-au integrat celulei-gazdă, transformînd-o în celulă eucariotă aerobă. Se consideră că au fost achiziționate prin simbioză mitocondriile, plastidele și genomul complexului flagelar. Analiza acestor organite a probat părerea că sînt de origine simbiotică, deoarece au un ADN specific care se poate replica prin mecanisme autonome (independente de mecanismele replicării ADN nuclear), realizează o transcripție proprie prin sinteza unui *m*ARN complementar (deosebit de *m*ARN produs de ADN nuclear; sînt complementare ADN propriu și *s*ARN și *r*ARN din aceste organite) și matrițează sinteza unor proteine caracteristice.

ADN-ul sau genomul organitelor intracitoplasmice este diferit de ADN din cromozomii nucleari ai aceleiași celule, prin faptul că nu este asociat cu proteine bazice. În mitocondrii, macromoleculele de ADN avînd o structură bicatenară helicoidală, fiind circulare în celula animală și lineare în celula vegetală, se replică după modelul semiconservativ ca și cromozomul bacterian, posedînd enzime (ADN-polimeraza) proprii. În mitocondrii sînt de asemenea și ribozomi, dar mult mai mici decît cei din citoplasmă, precum și *s*ARN și enzime necesare sintezei proteice proprii.

Asemenea mitocondriilor și la celelalte organite citoplasmice de origine simbiotică, macromoleculele de ADN sînt dispuse linear (în plastide) sau circular, neasociate cu proteine.

În citoplasmă sînt prezenți ribozomi, la nivelul cărora se desfășoară biosinteza proteică proprie.

La eucariote, genomul este constituit din ADN format din secvențe de baze dispuse *repetitiv* sau *redundant* și secvențe unice. (Termenul redundant, indică situația în care o secvență de informație genetică se găsește în dublu exemplar și este localizată spre capetele opuse ale grupului linkage, de exemplu: *a b c . . . m n o p . . . a b c*. Redundanța terminală este caracteristică bacteriofagilor). Se consideră că în procesele de reglare

a genelor intervin regiunile cu ADN repetitiv, iar celelalte regiuni reprezintă gene structurale.

Moleculele de ADN și de proteine la eucariote se asamblează la nivelul unor zone specifice ale membranei nucleare. În aceste regiuni se sintetizează ADN, iar capetele moleculelor liniare de ADN se prind de membrană. Membrana nucleară se fragmentează în cursul diviziunii nucleare, asigurînd stabilirea legăturii dintre cromozomi (cei care prezintă centromer) și fibrele fusului de diviziune, formîndu-se în acest fel *aparatul mitotic*. Acest element structural de absolută necesitate celulei, apărut în cursul evoluției eucariotelor, realizează repartiția cromozomilor la poli în mod echilibrat. Altfel, informația genetică ar fi repartizată inegal în nucleii fii, fapt ce ar fi uneori incompatibil cu viața organismelor. Se poate afirma că de-a lungul evoluției, selecția naturală a prezervat celulele care posedau mecanisme tot mai perfecționate pentru segregarea cît mai exactă a acizilor nucleici în celulele-fiice.

În legătură cu originea și evoluția cromozomului eucariotelor au fost emise diverse explicații. O primă explicație este reprezentată de *teoria repliconului*, elaborată de *F. Jacob* și col. (1963). Potrivit acestei teorii cromozomul circular al procariotelor, F-epizomii, factorii pentru transferul rezistenței, factorul colicinogenic ș.a. formează unități independente de replicare, iar cromozomii eucariotelor s-ar fi format prin agregarea longitudinală pe o axă comună a unui mare număr de asemenea repliconi. În cursul evoluției, cantitatea de informație genetică a sporit prin atașarea de noi repliconi, astfel că diferite regiuni ale cromozomului eucariotelor au origini diferite. O dovadă a acestei teorii este *asincronismul replicării* cromozomilor, fapt evidențiat prin metoda autoradiografiei.

În privința centromerilor cromozomilor se admite că apariția lor poate fi asociată cu procesul diviziunii unor endosimbionți procariotici care datorită mobilității lor au fost utilizați inițial de celula-gazdă pentru distribuirea în celulele-fiice ale gazdei, a cromatinei proprii, nou sintetizată.

Printr-un proces mutațional și selecție, acești „cărăuși" au evoluat spre centromerul cromozomal așa cum este cunoscut. Probabil, la început a avut loc dezvoltarea unei afinități și apoi a unei uniuni între acizii nucleici ai simbiontului și cei ai gazdei urmată de permanentizarea replicării și segregării longitudinale în același plan a întregului cromozom, atît la nivelul centromerului cît și a brațelor acestuia.

În evoluția lor, cromozomii eucariotelor au suferit însemnate restructurări datorită capacității acestora de a se fragmenta transversal în anumite condiții și a capacității fragmentelor cromozomice de a se reuni prin capetele lor la unele din capetele celorlalți cromozomi. Numărul schimbărilor structurale ale cromozomilor (de exemplu, al *crossoverelor*, dar mai ales al *dislocațiilor*) este în esență, nelimitat, ca urmare pot lua naștere cromozomi noi sau grupe linkage deosebite.

Evoluția materialului genetic a putut beneficia și de fenomenul multiplicării genomilor întregi (fenomenul de *poliploidie*), de pierderea sau cîștigarea unor cromozomi individuali (fenomenul de *aneuploidie*), de fragmentația cromozomilor, de schimbarea cantității de ADN din cromozomi fără schimbarea numărului acestora, de fisionarea centromerilor, urmată de fuzionarea întîmplătoare etc.

În lumea vie, fiecare specie constituie o entitate unică, nerepetabilă, datorită unei structuri genotipice caracteristice. Deosebiți sînt și indivizii din diverse populații. Aceste deosebiri genotipice se realizează în principal prin fenomenul recombinărilor genetice prin care informația ereditară „circulă" în cadrul unei populații.

Evoluția nu ar fi posibilă fără recombinări genetice.

După cum a mai fost menționat, *F. Jacob* (1972) relevă faptul că evoluția, alături de alte mecanisme, se bazează pe două mecanisme esențiale și anume: sexualitatea și moartea. În cadrul procesului sexual se realizează extraordinara variabilitate genetică.

În regnul vegetal, la plantele superioare, variabilitatea genetică se realizează în primul rînd prin

reproducere sexuată. Un obiect potrivit de studiu îl reprezintă porumbul. Ciclul vital al porumbului este tipic pentru plantele superioare și se poate urmări ușor.

GENERAȚIA SPOROFITICĂ. Din sămînță se dezvoltă planta de porumb care reprezintă *sporofitul*. Planta este diploidă, avînd în nucleu $2n=20$ cromozomi. Sporofitul produce pistilul și staminele.

GENERAȚIA GAMETOFITICĂ. La angiosperme, deci și la porumb este, în general, redusă. În florile femele se desfășoară *megasporogeneza*. Din celulele-mamă sau *megasporocite*, în urma diviziunii reducționale, iau naștere *megasporii*, cîte patru pentru fiecare celulă-mamă. Dintre aceștia, trei degenerează, iar al patrulea dă naștere *gametofitului femel*, reprezentat de *sacul embrionar* în care se găsește *oosfera* haploidă ($n=10$ cromozomi la porumb).

În florile mascule situate în panicul au loc procesele de *microsporogeneză*. Din celulele-mamă ale polenului sau *microsporocite* care se găsesc în antere iau naștere prin diviziune reducțională, *microsporii* haploizi ($n=10$ cromozomi), cîte patru microspori funcționali (grăunciori de polen) pentru fiecare microsporocită. Gametofitul mascul constă din grăunciori de polen din care printr-un proces de maturare rezultă gameții masculi.

În urma fecundării gametului femel sau *oosferei* haploide ($n=10$) cu gametul sau o *spermatie* haploidă ($n=10$) rezultă *zigotul* diploid ($2n=20$). Concomitent are loc în ovar și o a doua fecundare și anume unirea *nucleului de fuziune diploid* al sacului embrionar ($2n=20$), cu *a doua spermatie* ($n=10$) în urma căreia rezultă un nucleu triploid endospermic ($3n=30$ cromozomi). Astfel, la plante are loc o dublă fecundare.

Diviziunea mitotică a zigotului determină formarea *embrionului* ($2n$), iar a nucleului triploid ($3n$) a *endospermului* seminței. Sămînța poate intra în stadiul de repaus. Prin germinare embrionul crește rapid generînd o nouă plantă.

După cum a mai fost arătat, formarea gameților are loc în urma diviziunii meiotice. Or, recombinarea

genetică are loc tocmai în timpul meiozei în cromozomii homologi cu structură heterozigotă. Astfel, în profaza I, în cursul proceselor sinaptice are loc fenomenul recombinării materialului genetic datorită crossing overului. Probabil mecanismul propriu-zis al crossing overului are loc în interfază, în timpul duplicării cromozomilor, sau la începutul profazei.

În regnul animal, la mamifere, înmulţirea sexuală este generalizată, iar ciclul vital se poate schematiza astfel:

→ zigot ($2n$) → corp ($2n$) → procese de maturare (spre n) → gameţi (n) → fecundare (spre $2n$) → zigot ($2n$) →.

Gameţii animalelor reprezentaţi de spermatozoizi şi ovule, se formează în urma diviziunii meiotice, în timpul căreia se petrece recombinarea genetică.

Prin reproducerea sexuată, extrem de specializată la animale, se realizează marea variabilitate genetică.

La organismele evoluate, sexele au dobîndit o mare stabilitate, iar păstrarea raportului între sexe este controlată de fenomene genetice extrem de precise avînd la bază un mecanism cromozomal. Astfel, pentru determinarea sexului în cursul evoluţiei s-au specializat o parte din cromozomii garniturii diploide a unor organisme. Ca urmare, cromozomii au evoluat spre două grupe: *autozomi*, care formează perechi homologe şi implică majoritatea perechilor din garnitura diploidă a organismului (n-1 perechi) şi *heterozomi* sau *heterocromozomi*, reprezentaţi de o singură pereche de cromozomi. Heterocromozomii formează o pereche homologă la unul dintre sexe, denumit *sex homogametic* (produce un singur tip de gameţi), şi o pereche heterologă la celălalt sex, denumit *sex heterogametic* (produce două tipuri de gameţi în raport egal). Cromozomii sexului au fost simbolizaţi cu X şi Y la *Drosophila* sau Z şi W la fluture. Înseamnă că sexul homogametic are o pereche de cromozomi XX sau ZZ, iar sexul heterogametic o pereche XY sau ZW. Caracteristic pentru heterozomii XY, respectiv ZW, este faptul că se deosebesc între ei prin formă, mărime şi structură genetică.

Datorită cercetărilor multiple efectuate asupra heterocromozomilor la numeroase specii de vietuitoare s-a ajuns la cunoaşterea a două mecanisme cromozomale de bază de determinare a sexului: unul în care femela este homogametică (XX ♀) şi masculul heterogametic (XY ♂), iar altul în care femela este heterogametică (ZW ♀) şi masculul homogametic (ZZ ♂). (vezi subcapitolul „Mecanismele genetice ale determinării sexului").

Studiul structurii genetice a heterocromozomilor la vertebratele inferioare a permis să se stabilească faptul că în afara unor excepţii, cromozomii sexului X şi Y conţin aceleaşi gene, fiind aproape în totalitate homologi. La mamifere însă, heterozomii X şi Y cuprind practic alţi loci (alte gene) fiind profund diferenţiaţi genetic.

La sexul heterogametic datorită lipsei de homologie şi a faptului că heterocromozomii îşi păstrează individualitatea şi deci în meioză nu conjugă (nu formează perechi), fenomenul de recombinare genetică se realizează extrem de rar între cromozomii sexului X şi Y sau Z şi W. Schimbul de material genetic are loc la sexul homogametic la care există o pereche homologă de cromozomi ai sexului, fie XX(♀), fie ZZ (♂).

Evoluţia şi diversificarea unei perechi de cromozomi autozomi spre heterozomi, odată cu perfecţionarea funcţiei de determinare a sexului şi de controlare a caracteristicilor legate de sex, a avut loc în urma unor procese complexe de restructurări cromozomale (deleţii şi duplicaţii, inversiuni şi translocaţii, a unor recombinări genetice etc.).

Studiul comparativ al unor grupe de vertebrate superioare relevă aspecte interesante cu privire la heterocromozomi. De exemplu, la peşti, cromozomii sexului se găsesc într-o stare redusă de diferenţiere. Aceşti cromozomi nu au putut fi detectaţi citologic deoarece ei nu se deosebesc morfologic de autozomi. La unele genuri de peşti, masculul se comportă ca sex heterogametic (XY), iar femela ca sex homogametic (XX), în timp ce la alte genuri mecanismul este in-

versat. Faptul că la acest grup de vertebrate a fost pus în evidență fenomenul de transmitere ereditară a unor caracteristici legate de sex, a dus la concluzia că procesul de diferențiere a heterozomilor se află într-o fază incipientă. Un nivel scăzut de specializare a cromozomilor sexului s-a constatat și la amfibieni. Pe baza unor cercetări s-a emis și ipoteza că la pești și amfibieni sexul ar fi determinat de cîteva gene și deci ar acționa un mecanism genic (*P. Raicu*, 1974).

La reptile s-a perfecționat determinismul cromozomal al sexului. Astfel, s-a constatat că unele specii au heterozomi iar la altele nu a avut loc procesul de diferențiere. De exemplu, vipera posedă heterozomi (XY ♀, XX ♂), în timp ce la șopîrlă, crocodil, șarpe boa, broască țestoasă nu au fost detectați citologic cromozomii implicați în determinarea sexului.

Garnitura cromozomică la păsări este formată din unii cromozomi mari (macrocromozomi) și din cromozomi mici (microcromozomi) în număr destul de ridicat. De exemplu, la găină, garnitura diploidă conține $2n=78$ cromozomi și aproape toți sînt microcromozomi. Perechea a 5-a reprezintă cromozomii sexului (la cocoș — sex homogametic — perechea de heterocromozomi este formată din cromozomi metacentrici homologi — ZZ, iar la găină — sex heterogametic — perechea de heterozomi este alcătuită din cromozomi diferiți — ZW).

La mamifere, mecanismul cromozomal de determinare a sexelor s-a perfecționat și a căpătat o mare stabilitate, iar heterozomii diverselor grupe au devenit extrem de constanți acționînd după mecanismul XX femelă, XY mascul.

În decursul evoluției la acest grup important de organisme, de regulă unul dintre cromozomii sexului și anume cromozomul Y a suferit o serie de restructurări în sensul că s-a redus, micșorîndu-se corespunzător și conținutul lui în gene. În schimb, cromozomul X a rămas, în general, nemodificat, păstrîndu-și genele implicate în determinarea sexului, dar și în controlul caracteristicilor determinate de genele așa-numite X-*complet sex linkage*. Acest tip de gene, cu toate

că se găsesc doar într-o singură doză în sexul heterogametic (deci în sexul mascul aceste gene se găsesc în stare *hemizigotă*), se manifestă chiar și cînd sînt reprezentate de alele recesive, deoarece în celălalt cromozom al sexului (Y) nu se găsesc loci homologi.

Referindu-ne la autozomi, trebuie precizat că mamiferele au evoluat tocmai datorită progresului acestora. Astfel, a fost stabilit faptul că, chiar și în cadrul aceleiași grupe de mamifere, cromozomii s-au schimbat și s-au diversificat profund. Drept urmare, cariotipul mamiferelor a căpătat o neuniformitate accentuată. În schimb, se pare că heterozomii au rămas, practic neschimbați ca mărime și ca structură și continuă să conțină doar genele prezente în momentul începerii evoluției lor spre cromozomi ai sexului (*gene sex-linkage*).

Stabilitatea în timp a heterozomilor mamiferelor a fost probată printre altele și prin determinarea suprafeței acestora. Astfel, *S. Ohno* (1967), cu ajutorul unor studii cariologice comparative, la cîine ($2n=78$), asin ($2n=62$) și taur ($2n=60$) a stabilit că la aceste genuri foarte diferite cromozomii X au mărime egală, iar suprafața medie este cuprinsă între 4,11 și 4,65 μ^2. Aceasta reprezintă circa 5% din suprafața totală a cromozomilor. Faptul că la protoinsectivore, cromozomul X reprezintă tot 5% din suprafața cromozomilor, a dus la concluzia că acest grup primitiv ar reprezenta strămoșul mamiferelor.

Se poate aprecia că înmulțirea sexuată a survenit de timpuriu în evoluție. La început această modalitate a reprezentat un auxiliar al reproducerii, mai tîrziu a devenit preponderentă, iar pentru anumite grupe de organisme s-a transformat într-o necesitate biologică.

Deosebirile genotipice între indivizi se realizează în primul rînd prin fenomenul recombinării genetice (dar și al combinării libere a genelor). Prin recombinare genetică se constituie un fel de fond genetic comun, din care cu fiecare generație se ia ceea ce este necesar pentru noile programe genetice. Tocmai acest fond comun, această populație unită prin sexualitate, reprezintă unitatea elementară de evoluție (*F. Jacob*, 1972).

Cu toate că pe pămînt în anul 1976 se aflau peste 4,1 miliarde de oameni, nu există doi indivizi identici (cu excepţia gemenilor monozigotici). Numărul de cromozomi în celula somatică a omului este $2n = 46$. Dacă se consideră doar o singură genă în cromozom, probabilitatea ca o celulă sexuală să fie diferită de alta este de $(1/2)^{23}$, iar ca un individ să difere din punct de vedere genetic de altul este de $(1/2)^{46}$. Existenţa în fiecare cromozom a numeroase gene şi apariţia recombinărilor ridică sensibil numărul de combinaţii de gene ce intră în gameţi. Astfel, prin înmulţirea sexuată care implică recombinarea şi combinarea factorilor genetici din gameţii celor două sexe diferite, se realizează diversificarea şi îmbogăţirea continuă a materialului genetic.

Un rol important în evoluţia eucariotelor l-au avut şi mutaţiile spontane precum şi cele induse. Cauzele sînt variate: fizice (radiaţii etc.), chimice (substituţia sau eliminarea unor baze etc.), enzimatice (erori ale sistemului de replicare, modificarea unor enzime reparatorii ale catenelor de ADN etc.).

Atît în urma procesului mutaţional, cît şi în urma recombinării genetice, prin reproducere, apare variabilitatea care caracterizează lumea vie. Selecţia naturală a păstrat însă doar variaţiile individuale favorabile speciei. Natura acţionează asupra constituţiei însăşi a fiinţelor, dar şi asupra organizării în ansamblu. Selecţia naturală cercetează critic, zilnic şi ceas de ceas în întreaga lume vie, cele mai uşoare variaţii, respingîndu-le pe cele dăunătoare, păstrîndu-le şi acumulîndu-le pe cele folositoare (*F. Jacob*, 1972).

Din studiile efectuate s-a constatat faptul că, în general, în procesul evoluţiei materialului genetic, a avut loc o creştere cantitativă a ADN, de la organismele mai puţin evoluate spre cele evoluate. Astfel, numărul de nucleotizi creşte odată cu evoluţia organizării unui individ. De exemplu, molecula monocatenară de ADN a cromozomului bacteriofagului $\varphi \times 174$ conţine 4 500 de nucleotizi, molecula bicatenară a cromozomului bacteriofagului T4 conţine 400 000 nucleo-

tizi, cromozomul bacteriei *E. coli* conţine 20 000 000 nucleotizi, *D. melanogaster* 160 000 000 nucleotizi, iar complementul cromozomal al mamiferelor cuprinde $1,4 \times 10^{10}$ nucleotizi (aproximativ de 800 ori mai mulţi decît celula bacteriană).

Cantitatea de ADN nu reprezintă în toate cazurile un indicator absolut al gradului de evoluţie al speciilor respective. De exemplu, unele specii de amfibieni posedă în celulele lor de circa 25 ori mai mult ADN decît celulele mamiferelor.

Aşa cum s-a mai menţionat, în procesul evoluţiei vieţuitoarelor, materialul genetic a fost afectat şi de schimbări structurale cromozomale.

Studii numeroase au relevat rolul fenomenului de duplicaţie a genelor, în urma căruia rezultă copii redundante ale unui anumit locus. De exemplu, în organizatorul nucleolar la *D. melanogaster*, a fost evidenţiată prezenţa a 100 copii ale genei ce condiţionează sinteza *r*ARN, copii care sînt dispuse în tandem etc. Duplicaţia genelor are rol important în apariţia de noi loci cu funcţii deosebite. Are loc astfel creşterea cantitativă de material genetic, şi o diversificare a funcţiilor genelor.

COMPLEMENTUL CROMOZOMAL reprezintă totalitatea cromozomilor unei specii date, caracterizaţi printr-o anumită formă, structură, mărime şi număr. Numărul, mărimea şi morfologia (forma şi structura) cromozomilor dintr-o celulă în metafază reprezintă *cariotipul*. Acesta este caracteristic pentru fiecare specie în parte. Relevarea cariotipului se realizează prin cercetare microscopică în timpul diviziunii mitotice şi meiotice. Pentru studiul caracteristicilor cariotipului se efectuează fotografierea la microscop, urmată de decuparea şi aranjarea sistematică a cromozomilor celulei respective pe baza mărimii, numărului şi formei lor.

Studiul comparativ al cariotipului la diverse specii cu grade diferite de evoluţie, evidenţiază faptul că la organismele superioare complementul cromozomal a

dobîndit o mare stabilitate și se transmite ca atare numeroase generații. Aceste studii au relevat totodată și faptul că o schimbare cît de mică care ar putea surveni în structura sau numărul cromozomilor are drept consecință urmări negative, iar uneori chiar efecte letale.

Speciile de plante și animale au în general o garnitură cromozomică *diploidă* — adică posedă în nucleu două seturi homologe de cromozomi, una adusă de gametul femel, alta de gametul mascul. Faza diploidă se simbolizează $2n$. În natură există însă și specii eucariote *haploide*, la care cromozomii nu apar în perechi. Obișnuit, aceste organisme provin dintr-un gamet mascul sau femel nefecundat. Faza haploidă se simbolizează n. Haploidia naturală caracterizează grupe mari de organisme ca: ciuperci, briofite, unele insecte etc. precum și faza de gametofit a plantelor diploide. Haploizii pot fi recunoscuți după aspectele lor morfologice și prin cercetări citogenetice.

Organismele normal haploide, cum sînt masculii (trîntorii) de albină (*Apis melifera*), se dezvoltă din ovule nefecundate prin *partenogeneză*. (Matca este diploidă — $2n = 32$ cromozomi, iar trîntorul este haploid — $n=16$ cromozomi.) Pentru producerea spermatozoizilor la trîntor, meioza suferă modificări în sensul că nu mai are loc o diviziune de reducere cromozomală (diviziunea *heterotipică*), ci numai a doua diviziune a meiozei (diviziunea *homotipică*), fapt ce face ca numărul de cromozomi conținut de spermatozoizi să fie egal cu cel al celulelor somatice ($n=16$).

Frecvența apariției spontane a unor indivizi haploizi la diverse specii este în general foarte mică. De exemplu, la bumbac este de 0,025—0,037%, la porumb de 0,05%, la grîu de 0,025% etc.

Studiul citologic al diferitelor specii actuale de plante a evidențiat faptul că multe dintre ele derivă din una sau mai multe forme vechi pe calea dublării sau multiplicării întregului set de bază de cromozomi, fenomen cunoscut sub denumirea de *poliploidie*. S-a constatat că poliploidia este prezentă în tot regnul

vegetal, mai frecventă fiind la *Angiosperme*. Poliploidia este prezentă cu deosebire la speciile de plante ierboase multianuale (perene) și mai puțin printre plantele anuale și mult mai puțin printre speciile lemnoase.

La animale, poliploidia este, în general, rar întîlnită. Se consideră că limitarea poliploidizării la animale se datorează separării nete a celor două sexe, care nu a permis o variație a numărului de cromozomi. Gameții cu număr de cromozomi diferit de cel normal nu asigură o descendență cu șanse de perpetuare.

Alături de poliploidie, cariotipul se poate schimba și prin alte mecanisme de evoluție care afectează structura cromozomilor. Pe baza acestor mecanisme a fost posibil ca în cadrul aceleiași cantități de material genetic să se producă structurări și recombinări care au favorizat procesul de speciație. De exemplu, la păsări și mamifere care au $3,5 \times 10^{-9}$ mg ADN/nucleu și respectiv 7×10^{-9} mg ADN/nucleu, numărul, mărimea și structura cromozomilor la diferite specii în cadrul fiecărei clase variază în limite foarte mari. La mamifere, numărul de cromozomi al diferitelor specii variază între $2n=6$ și $2n=84$, în timp ce cantitatea de ADN este relativ constantă. De remarcat, că păsările comparativ cu mamiferele conțin jumătate din cantitatea de ADN/nucleu (între 44 și 59%), fapt ce demonstrează că aceste două grupe mari de vertebrate au evoluat divergent, separîndu-se de relativ multă vreme, în momentul cînd la primele mamifere s-a produs o dublare a genomului primitiv.

În concluzie, se poate aprecia (independent de evoluție și direcțiile ei) că în strămoșul comun al tuturor viețuitoarelor, exista un cod genetic elaborat și perfecționat, care a însoțit evoluția în toate momentele, principale sau secundare, și care nu a mai evoluat, fiind identic, în trecut și azi, la toate organismele. În schimb, au apărut și s-au dezvoltat mecanisme foarte variate pe baza cărora s-a produs o creștere și o diversificare a cantității de material genetic și de informație genetică, fapt ce a determinat evoluția vieții pe pămînt.

INDICAŢII PRACTICE CU PRIVIRE LA STUDIUL CROMOZOMILOR

CUM SE POT OBSERVA CROMOZOMII LA PLANTE

Observarea numărului, formei şi mărimii cromozomilor atît în cursul diviziunii mitotice cît şi a diviziunii reducţionale (meiotice) este posibilă în laborator prin folosirea unor metode şi tehnici microscopice care permit efectuarea de cercetări cariologice foarte detaliate.

Evidenţierea şi studiul microscopic al *cromozomilor somatici* (din celulele corporale) se face pe ţesuturi meristematice, embrionare, în care au loc diviziuni repetate. Un material excepţional pentru preparatele microscopice îl constituie radicelele seminţelor încolţite. Germinarea seminţelor se face în vase Petri pe hîrtie de filtru umezită. Radicelele nu trebuie să depăşească 1—1,5 cm lungime. La ceapă, usturoi şi alte plante cu organe vegetative de reproducere, radicelele se obţin prin plasarea acestor organe în apă.

În scopul fixării momentului diviziunii, materialul recoltat (radicelele) *se prefixează* cu substanţe cu *acţiune statmocinetică* (gr. *stathmos* — staţionare, oprire; *kinesis* — mişcare). Astfel de substanţe sînt colchicina în concentraţie de 0,01%, α-bromonaftalena, α-cloronaftalena şi α-iodonaftalena în concentraţie de 25%. Acţiunea statmocinetică a acestor substanţe se manifestă prin scurtarea cromozomilor şi blocarea lor în metafază, împiedicînd formarea fusului de diviziune şi deplasarea cromozomilor spre poli. În felul acesta cromozomii sînt mai uşor observaţi, iar preparatele sînt mai bogate în metafaze. Radicelele se lasă în prefixator 1—2 ore.

Păstrarea nealterată a formei cromozomilor se realizează prin trecerea radicelelor printr-o *soluţie de fixator*; operaţia are ca scop şi coagularea constituenţilor celulari. Cel mai utilizat fixator este acidul acetic (acid acetic glacial 45% şi apă distilată 55%). În fixator, radicelele se lasă 12—15 ore, la frigider.

Operaţia următoare este *hidroliza*. Aceasta se face în scopul de a dizolva parţial compuşii pectici din mem-

brana celulară și de a ușura procesul de colorare. De asemenea, se obține și o mai bună etalare a celulelor și a cromozomilor între lamă și lamela de sticlă. Hidroliza se face cu HCl normal, astfel: din fiolele cu radicele, se elimină fixatorul și se adaugă 2—3 cm³ de HCl normal la temperatura de 60°C. Fiolele se introduc apoi într-un termostat la 60°C unde se lasă 12 minute în cazul radicelelor de grîu și secară, 15 minute în cazul radicelelor de tutun ș.a. Timpul de hidroliză al materialului variază în funcție de specie, depinzînd de duritatea țesuturilor. Prin tatonări se poate determina destul de precis timpul necesar pentru hidroliză.

Acidul clorhidric normal se prepară din acid clorhidric pur (d=1.19) din care se iau 82,5 cm³ pentru 1 000 cm³ de apă distilată.

Colorarea se face cu *reactiv Schiff* care colorează cromozomii în roșu violaceu. Reactivul Schiff se prepară după cum urmează: se ia 1 g fucsină bazică, cristale, se transformă în pudră și se pune într-un balon de sticlă; peste această pudră se pun 200 cm³ apă distilată la 100°C, se agită puternic și se lasă să se răcească la 50°C; se filtrează și se adaugă apoi 30 cm³ acid clorhidric normal și 3 g metabisulfit de potasiu; se lasă soluția 24 ore într-o sticlă bine închisă, la întuneric și la rece; după acest timp soluția are o culoare gălbuie. Pentru decolorarea soluției se adaugă 0,5 g carbon vegetal, se lasă aproximativ 1 minut și se filtrează repede printr-o hîrtie de filtru grosieră. Soluția se păstrează la întuneric și la rece (4°C).

În colorant, radicelele se lasă 15—30 minute pînă cînd vîrful lor se colorează în roșu-violaceu. Colorarea are la bază reacția dintre fucsina bazică și grupările aldehidice ale ADN.

Uneori, cînd cromozomii sînt mici și greu colorabili se utilizează pentru colorare orceina acetică. În acest caz, materialul se prefixează 2—3 ore în α-bromonaftalenă. Fixarea se face în alcool acetic (3 părți alcool de 96° la o parte de acid acetic glacial) timp de cîteva zile la temperatura de 2°C. Hidroliza și colorarea au loc concomitent în acest caz și anume, în capsule de porțelan în care se pune orceina acetică (orceină+acid acetic

glacial 1—2%) și HCl normal. În acest amestec lichid se pune materialul după fixare şi se încălzeşte la flacăra unei lămpi de spirt evitîndu-se fierberea.

Examinarea cromozomilor. Pe o lamă de sticlă, într-o picătură de apă acetică sau carmin acetic se detaşează vîrful colorat al radicelei, după care peste material se pune o lamelă. Peste aceasta se aşază o hîrtie de filtru și apoi, cu ajutorul unui băţ de chibrit, se bate ritmic, uşor, pînă ce materialul este distribuit uniform între lamă și lamelă, iar cromozomii sînt etalaţi între lamă și lamelă. Urmează studiul microscopic al cariotipului, respectiv al numărului, mărimii și formei cromozomilor în metafază.

Pentru obţinerea de preparate pe care urmează a le păstra în colecţia laboratorului se procedează astfel: lamela se unge cu un amestec de albumină și glicerină (albumină glicerinată) și se trece prin flacăra unei lămpi de spirt după care lamela se aplică pe preparat. Se etalează cromozomii după care se trece la observarea la microscop pentru a depista preparatele cele mai bune. Preparatele se pot semifixa cu ajutorul parafinei pusă pe marginea lamei sau cu o soluţie de lipit cauciuc. Pentru efectua ea preparatelor fixe (permanente), lama se cufundă cu lamela în jos într-un vas cu apă acetică 45% pe niște suporţi (baghete de sticlă). După un timp scurt lamela se separă de lamă. Se trece apoi la deshidratarea materialului. Lama și lamela se trec prin 4 băi succesive de alcool absolut. Se scoate lama și pe partea unde a fost preparatul se pune o picătură de euparal care este o rășină miscibilă cu alcoolul. Apoi se ia lamela și se plasează pe lamă. Pentru îndepărtarea excesului de euparal, se apasă uşor pe lamelă cu o bucată de hîrtie de filtru. Preparatele se lasă cîteva zile la temperatura camerei pentru a se usca. Astfel montate, preparatele pot fi păstrate timp îndelungat.

În loc de euparal se poate folosi și balsamul de Canada, o rășină miscibilă cu toluolul și xilolul. Pentru aceasta este necesar ca, după deshidratarea în alcool absolut, preparatul să fie trecut succesiv timp de cîteva minute prin 2 băi cu toluol sau xilol. După aceea, pe

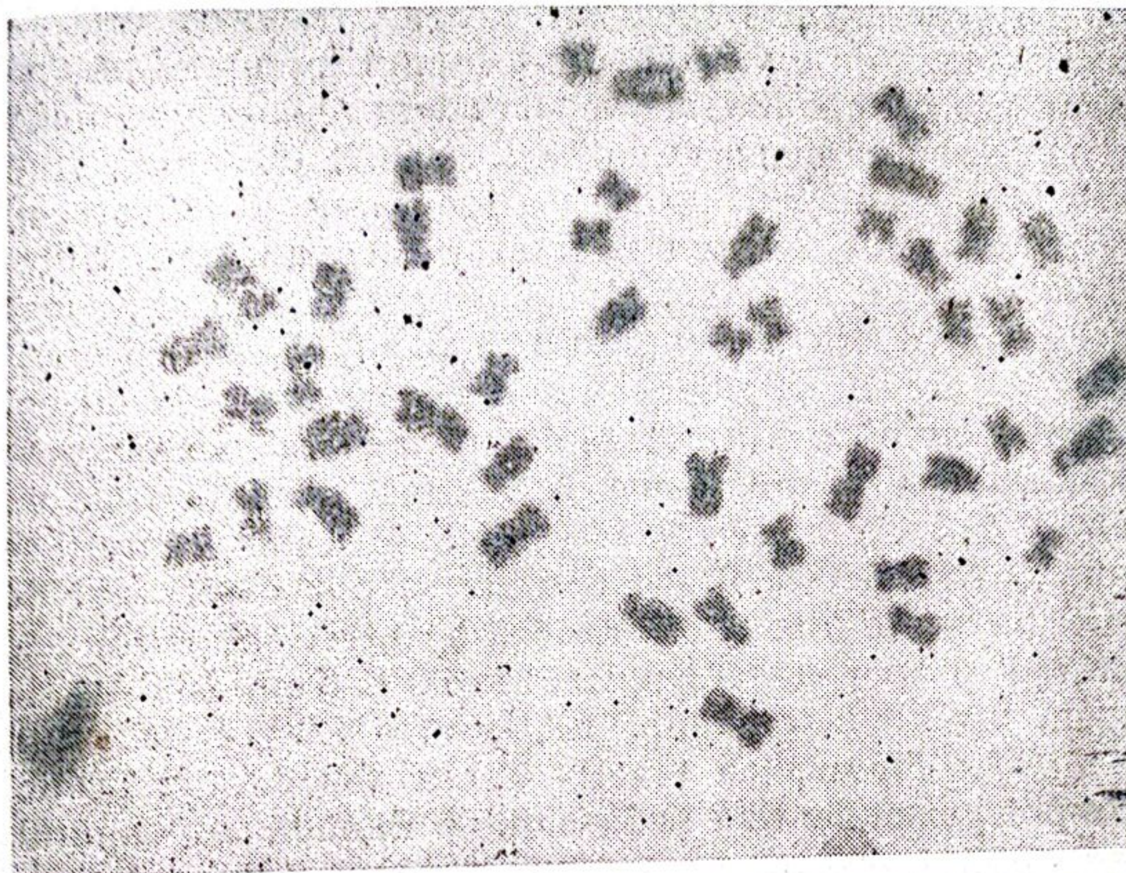


Fig. 25. Diviziunea mitotică în metafază la tutun, *Nicotiana tabacum* diploid, $2n=48$ cromozomi.

lama umedă se pune o picătură de balsam de Canada și se scoate repede lamela din lichid, plasîndu-se pe lamă (fig. 25).

Pentru observarea cromozomilor *în meioză* sau *diviziune reducțională* (de formare a sporilor) se folosesc antere tinere de culoare verzuie. De la cereale se folosesc spice tinere, în burduf, de 4—5 cm lungime. Pentru evidențierea diferitelor faze ale meiozei, de exemplu la grîu, se scot cele trei stamine din florile spiculețelor situate în regiunea centrală a spicului. Una dintre aceste stamine se pune pe o lamă într-o picătură de soluție carmin-acetică și se secționează transversal. Apoi se apasă pe cele două jumătăți pentru a goli antera de conținut, adică de celulele-mamă ale grăunciorilor de polen. Peste acest material se pune o lamelă și cu o bucată de hîrtie de filtru se apasă pentru a etala bine celulele și a îndepărta excesul de colorant. Colorarea materialului are loc foarte repede astfel că imediat se poate începe observarea la microscop.

În general, staminele din aceeași floare se află în aceeași fază de diviziune. De-a lungul spicului sînt mai avansate staminele și florile situate în regiunea mediană și mai întîrziate cele de la bază și vîrf. Obișnuit, cînd este timp suficient pentru observarea la microscop a unei stamine, se pune în fixator întregul spic. Materialul colectat se fixează în alcool acetic 3 : 1 și se lasă cel puțin o oră la temperatura camerei sau cel mult 24—48 ore în frigider după care se trece în alcool absolut timp de o jumătate de oră, pentru îndepărtarea acidului acetic din țesuturi. Se trece apoi în fiole cu alcool de 70° care se închid ermetic prin parafinare și se pun în frigider la 0°—4°C unde se pot păstra ani de zile. Se poate face și o hidroliză a anterelor spălîndu-se cu apă și apoi cu HCl normal la 60°C timp de 8—9′ la grîu, 9—10′ la porumb, 12′ la orz, 12—14′ la tutun ș.a. Se colorează cu reactiv Schiff sau carmin acetic. Se pot permanentiza în balsam de Canada sau euparal.

Fixarea prealabilă a materialului nu este obligatorie, deoarece materialul se poate pune direct într-o soluție carmin-acetică în care are loc concomitent procesul de fixare și colorare. Cu toate acestea o fixare prealabilă face ca hidroliza materialului să se facă mai rapid, iar țesuturile să devină mai sensibile la colorant.

Soluția carmin acetică se prepară astfel:

— apă distilată	55 cm^3
— acid acetic glacial	45 cm^3
— carmin	0,5 g

Se fierbe totul într-un balon de sticlă cu reflux, se agită bine și se pune în bain-marie pînă ce amestecul începe să fiarbă, lăsîndu-se astfel cîteva minute. Se agită și se lasă să se răcească, se filtrează și se pun cîteva cristale de acetat de fier care se dizolvă în soluție, excesul rămînînd la fund. Într-o sticlă de ceas pyrex, se toarnă puțină soluție și materialul respectiv, de pildă, vîrfuri de rădăcini. Apoi se încălzește deasupra unei flăcări de la o lampă de spirt sau gaz, evitîndu-se fierberea, pînă ce materialul capătă o culoare închisă și devine moale. Materialul care a fost încălzit se pune

pe o lamă într-o picătură proaspătă de carmin-acetic. Peste material se pune o lamelă unsă cu albumină glicerinată și trecută prin flacără, după care se apasă uniform peste lamelă.

CUM SE POT OBSERVA CROMOZOMII LA ANIMALE ȘI OM

La animale cromozomii se pot observa și analiza pe diferite țesuturi cum sînt: măduvă hematopoietică, cornee, splină, testicul, culturi de sînge periferic, culturi de fibroblaști, tumori, țesut conjunctiv etc.

De exemplu, cum se pot studia cromozomii în măduva osoasă hematopoietică la animale?

În laboratoare specializate se aspiră cu o seringă 0,5 ml măduvă osoasă hematopoietică sternală, tibială sau din creasta iliacă și se trece în 2—3 ml soluție de colchicină. Fragmentele de măduvă hematopoietică se transferă apoi în al doilea schimb de soluție de colchicină, pentru 1—2 ore la 20—30°C (soluția de colchicină este o soluție de NaCl 0,85% tamponată cu $6{,}6 \times 10^{-3}$ fosfat cu pH=7 la care se adaugă colchicină sau colcemid 0,3 mg/ml). Apoi, materialul medular se trece în 2—3 ml soluție hipotonă de citrat de sodiu în apă distilată 1%, 30 de minute la temperatura de 20—30°C.

Se transferă materialul într-o sticlă de ceasornic care conține cîteva picături de orceină acetică 2%, 9 volume+1 volum HCl 1 N. Se încălzește la o flacără mică, evitînd fierberea. În această soluție se realizează concomitent fixarea materialului, colorarea și înmuierea lui.

Din fiecare fragment de țesut medular se realizează preparate microscopice de *tip squash* (l. engl. *squash* — strivit, presat; preparat obținut prin zdrobirea sau strivirea materialului biologic) în orceină acetică 2%; sau extractul medular se introduce în 2—3 ml soluție de colchicină (0,3 mg colchicină sau colcemid/ml soluție de NaCl 0,85% ajustată la *p*H=7 cu fosfat $6{,}6+10^{-3}$)

timp de 1—3 ore. Se supune centrifugării 4—5 minute la 400 rotaţii pe minut (r.p.m.). Se înlătură supernatantul şi se adaugă 2—3 ml soluţie hipotonă de citrat de sodiu 1%. Se agită apoi fiola cu material pentru a obţine o suspensie uniformă şi se lasă 30 minute, apoi se centrifughează în acelaşi mod, se îndepărtează supernatantul, se adaugă 5 ml fixator acid acetic (3 : 1). Se agită fiola şi se lasă circa o jumătate de oră. Apoi din nou se agită şi se adaugă fixator proaspăt. Cu o pipetă Pasteur se pun 1—2 picături pe lame curate şi degresate. Se suflă uşor pe fiecare picătură pentru împrăştierea celulelor şi uscarea preparatelor. Lamele se lasă să se usuce la aer, după care se colorează cu orceină acetică 2%, cu reactiv Schiff, soluţie Giemsa sau soluţie de cristal violet.

Pentru permanentizare, preparatele se desh dratează în băi de alcool de diferite grade, ş pentru clarificare în 2 schimburi de alcool absolut pentru a evita extracţia excesivă a colorantului, 2 schimburi de xilol şi se montează în euparal sau în balsam de Canada.

Pentru evidenţierea cromozomilor din splină se procedează astfel: se injectează animalele de experienţă intraperitoneal cu o soluţie de colchicină 0,04% cu o oră înainte de sacrificare. Apoi se sacrifică şi se recoltează splina, care se introduce într-un vas cu soluţie izotonă de citrat de sodiu 22%. Cu o foarfecă se mărunţeşte pînă la obţinerea unei suspensii celulare. Se elimină ţesuturile rămase, se adaugă 2 volume de apă distilată în care se lasă circa 10 minute. Apoi se îndepărtează supernatantul şi se adaugă încet fixatorul din 9 părţi acid acetic 60% şi o parte HCl 1 N. După 10—15 minute se elimină fixatorul şi celulele se suspendă în soluţie de orceină acetică 2%. După 2—3 minute se plasează o picătură de suspensie de celule în colorant şi se efectuează un preparat între lamă şi lamelă.

În laboratoarele de citologie, în vederea diagnosticului şi tratamentului, *cromozomii umani* sînt relevaţi în ţesuturi cu diviziuni intense, cum este măduva roşie hematopoietică. În acest scop, specialiştii efectuează o puncţie sternală. Se recoltează măduva, pre-

cum şi 20 cm^3 de sînge. Are loc o sterilizare în autoclav, apoi o centrifugare cu turații mici pentru decantarea serului sangvin. Se decantează serul sangvin, care se amestecă cu măduva roșie, adăugîndu-se 2—3 cm^3 de mediu sintetic Difco, care este un mediu de cultură.

În unele cazuri se poate adăuga colchicina pentru blocarea cromozomilor în metafază. Se fac noi centrifugări, se trece materialul de cultură la diferite temperaturi. Se face fixarea cu alcool acetic 3 : 1. Cu o pipetă Pasteur luăm din mediul de cultură o picătură și o întindem pe o lamă microscopică. Se face un frotiu (probă dintr-un material:țesut triturat, cultură microbiană — întinsă pe o lamă în scopul examinării la microscop). Se usucă. Colorarea se face cu soluție Giemsa. După uscare se observă cu obiectivul de imersie.

CUM SE ALCĂTUIEŞTE O IDIOGRAMĂ

Prin *idiogramă* se înțelege reprezentarea grafică a cromozomilor dintr-un cariotip. În acest scop se realizează o aranjare sistematizată a cromozomilor unei celule mitotice sau meiotice pe baza numărului, formei și poziției centromerului, mărimii sau oricărei alte caracteristici care poate fi reprezentativă pentru complementul cromozomal al unei varietăți celulare, individ sau specii.

După cum s-a precizat, faza de diviziune cea mai indicată pentru analiza cariotipului este metafaza mitozei, cînd cromozomii prezintă maximul de condensare și contrast în colorare.

Pentru elaborarea unei idiograme, prima condiție este identificarea morfologică a cromozomilor. Definirea poziției contromerului și a diferitelor tipuri morfologice de cromozomi care rezultă din această localizare, se face pe baza nomenclaturii propusă de citogenetistul *A. Levan* și col. (1964).

Poziția centromerului, una din caracteristicile cele mai constante ale cromozomilor, poate fi exprimată prin

raportul $r = \frac{l}{s}$ (r = raportul dintre brațe; l și s — lungimea brațului lung și respectiv a brațului scurt).

Levan și colaboratorii au propus următoarea nomenclatură standardizată în funcție de poziția centromerului:

— cromozomi metacentrici, cu centromerul situat în punctul median (M) cu r = 1,0, sau în regiunea mediană (m) cu r = 1,7;

— cromozomi submetacentrici (sm) și subtelocentrici (st) cu centromerul situat în regiunea submediană și respectiv subterminală cu r = 1,7 — 3,0 și respectiv r = 3,0 — 7,0;

— cromozomi acrocentrici (t) cu centromerul în regiunea terminală cu r = 7;

— cromozomi telocentrici (T) cu centromer terminal.

Indexul centromeric este de asemenea utilizat în stabilirea tipurilor morfologice cromozomale și este exprimat prin raportul între brațul scurt și lungimea totală a cromozomului, raportat la 100.

Clasificarea cromozomilor în funcție de poziția centromerului (după Levan, Fredga și Sandberg, 1964)

Poziția centromerului	Simbolul cromozomului	Index centromeric	Raportul brațelor	Denumirea cromozomului
Median (*sensu strictu*)	M	50,0	1,0	Metacentric
Regiunea mediană	m	37,0	1,7	
Submedian	sm	25,0	3,0	Submetacentric
Subterminal	st	12,5	7,0	Subtelocentric
Regiunea terminală	t			Acrocentric
Terminal (*sensu strictu*)	T	0,0	α	Telocentric

În vederea alcătuirii idiogramei se aleg microscopic metafazele cele mai caracteristice în care cromozomii sînt bine etalați și pe o suprafață relativ restrînsă. După numărarea și identificarea morfologică a cromozomilor, metafazele de bună calitate se fotografiază. Apoi, cromozomii sînt decupați și aranjați în idiogramă în ordinea descrescătoare a lungimii și pe grupe morfologice. Se are în vedere și dispunerea cromozomilor homologi în perechi. Aranjarea cromozomilor pe perechi, are la bază folosirea a cel puțin doi parametri de caracterizare a cromozomilor respectivi: lungimea și raportul brațelor.

Prezența constricțiilor secundare și a sateliților cromozomali de asemenea trebuie luate în considerare la alcătuirea idiogramei.

În scopul reprezentării grafice cît mai precise a cariotipului se efectuează măsurarea cromozomilor din mai multe celule.

Idiograma *cariotipului uman* standardizat este alcătuită din 7 grupe distincte de cromozomi autozomi aranjați pe baza mărimii (a lungimii) în ordine descrescătoare și numerotați de la 1 la 22 și o pereche de cromozomi ai sexului (XX la sexul femel și XY la sexul mascul) numerotată 23 (fig. 26).

Pe grupe și în funcție de lungime, cromozomii umani sînt dispuși astfel:

grupa I (cromozomii 1—3) — cromozomi mari cu centromerul aproximativ median;

grupa II (cromozomii 4—5) — cromozomi mari cu centromerul submedian;

grupa III (cromozomii 6—12) și cromozomul X — cromozomi de mărime medie cu centromerul submedian;

grupa IV (cromozomii 13—15) — cromozomi de mărime medie cu centromerul aproape terminal (acrocentrici);

grupa V (cromozomii 16—18) — cromozomi mici cu centromerul aproape median (la cromozomul 16) sau submedian;

grupa VI (cromozomii 19—20) — cromozomi scurți cu centromerul aproximativ median;

grupa VII (cromozomii 21—22) și cromozomul Y — cromozomi acrocentrici foarte scurți.

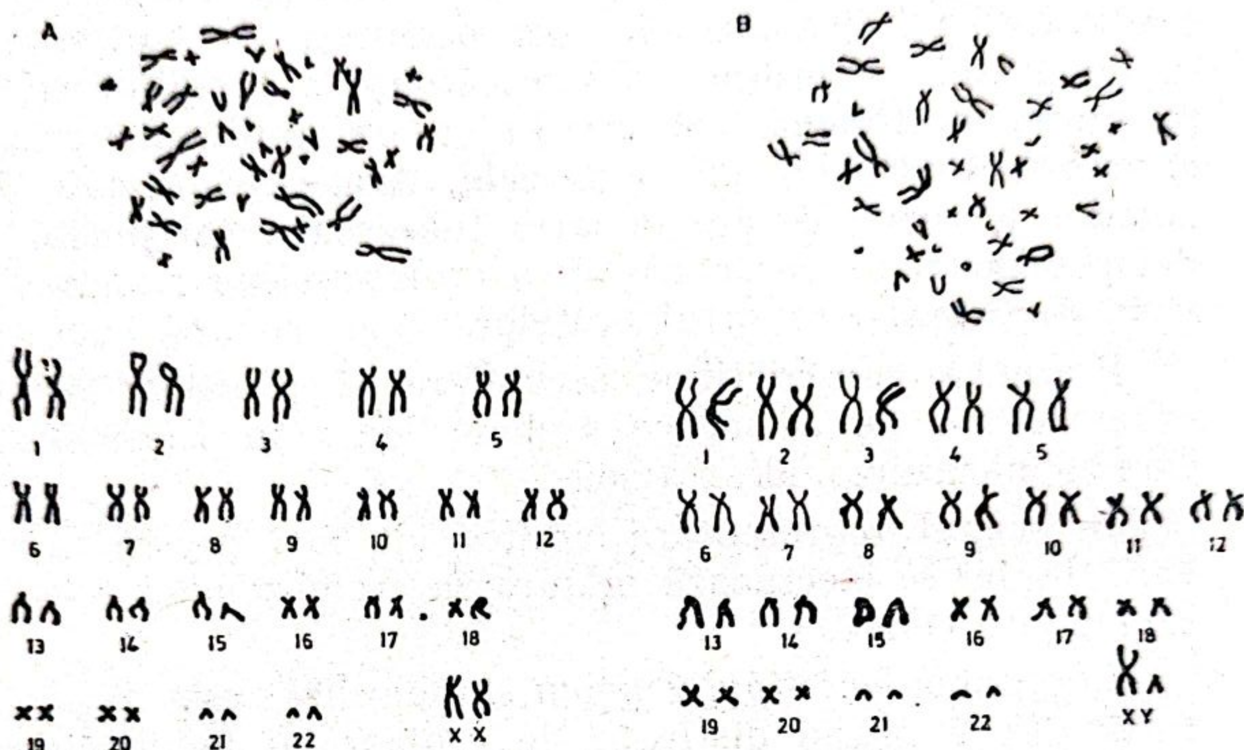


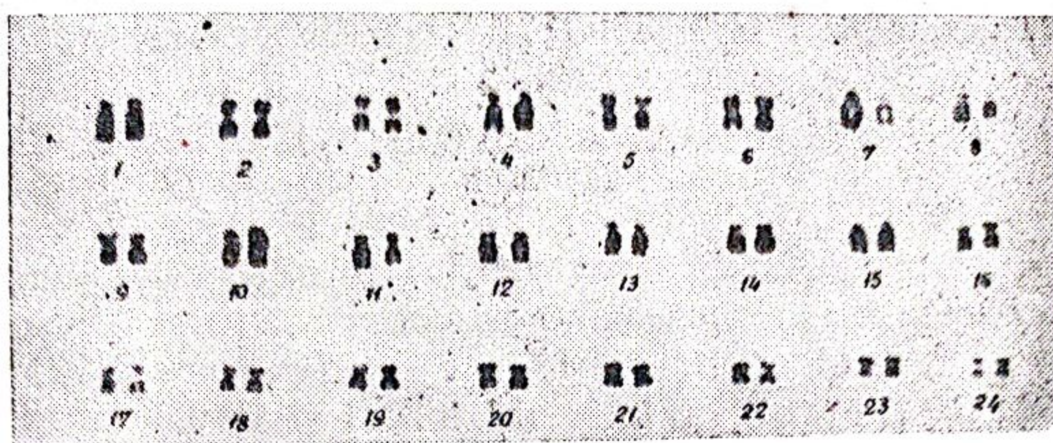
Fig. 26. Complementul cromozomal diploid în metafază la om; A — cariotipul și idiograma la sexul femel; B — cariotipul și idiograma la sexul mascul.

Alcătuirea idiogramei la alte specii de animale are la bază aceleași metode și principii ca și la om.

De exemplu, la hamsterul auriu sau sirian (*Mesocricetus auratus*), specie curent utilizată în lucrările de citogenetică, cariotipul este constituit din $2n=44$ cromozomi (21 perechi de autozomi și 2 cromozomi ai sexului X și Y). Cele 21 perechi de autozomi sînt grupate în ordine descrescătoare a mărimii lor în 5 grupe morfologice distincte fiind notate, de unii autori cu cifre, de alții cu litere.

La șoarece (*Mus musculus*), toți cei 40 cromozomi ai complementului diploid (38 autozomi și cei doi cromozomi ai sexului notați X și Y), sînt acrocentrici.

La ceapă, *Allium cepa*, cariotipul este alcătuit din 8 perechi ($2n=16$), dintre care perechile 1, 2 și 5 se identifică ușor datorită morfologiei lor și anume:



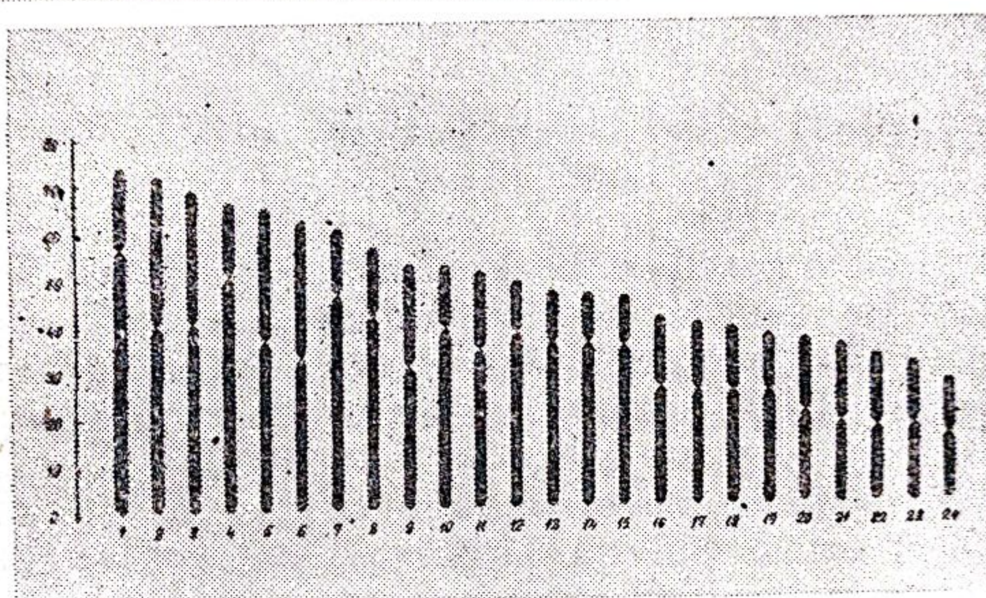


Fig. 27. Idiograma la tutun, *Nicotiana tabacum* diploid, $2n=48$ cromozomi: 1 — aranjarea cromozomilor perechi după decupare în funcție de morfologie și lungime; 2 — reprezentarea grafică a cromozomilor prin măsurarea lungimii brațelor și indicarea poziției centromerului (constricția primară).

perechea 1 are centromer subterminal și o constricție secundară pe brațul scurt, care separă un satelit; perechea 2, alcătuită din cromozomi submetacentrici, este cea mai mică din cariotip; perechea 5 este mai mare și este alcătuită din cromozomi cu centromer median sau aproape median. Ceilalți cromozomi se grupează în două categorii: una din ele cuprinde perechile 3 și 4, cu centromerul aproape median; cealaltă cuprinde perechile 6, 7 și 8 cu centromerul submedian, aranjate în ordine descrescătoare.

La tutun, *Nicotiana tabacum*, cariotipul cuprinde 24 perechi de cromozomi ($2n=48$), încadrate în trei

grupe de tipuri morfologice. Astfel sînt: cromozomi de tip metacentric (perechile 2, 3, 5, 6, 20, 21, 22, 23 și 24); cromozomi de tip submetacentric (perechile 9, 11, 16, 17, 18 și 19) și cromozomi de tip subtelocentric (perechile 1, 4, 7, 8, 10, 12, 13, 14 și 16) (fig. 27).

Analiza statistică a evidențiat următoarele: lungimea absolută a cromozomilor este cuprinsă între 3,70 μ — 1,34 μ. Indicele centromeric este cuprins între 0,221 și 0,455, iar raportul brațelor între 3,51 și 1,19.

TRANSMITEREA ŞI DISTRIBUŢIA GENELOR LA DESCENDENŢI

GENE INDEPENDENTE ŞI GENE ÎNLĂNŢUITE (LINKAGE)

TEORIA FACTORILOR EREDITARI

O contribuţie de seamă la dezvoltarea cunoştinţelor despre ereditate o constituie comunicarea, în 1865, a lucrării „Versüche über Pflanzenhybriden" („Experienţe asupra hibrizilor vegetali"), întocmită de biologul ceh *Gregor Mendel* (1822—1884). În lucrare, tipărită în 1866, sînt prezentate rezultatele experienţelor asupra hibrizilor vegetali, concepţia privind teoria *factorilor ereditari* şi concluziile formulate pe baza cercetărilor. Prin descoperirile sale *Mendel* a fundamentat ştiinţa eredităţii fapt pentru care este considerat părintele geneticii.

Cercetările lui *Mendel* au fost efectuate în special pe mazăre (*Pisum sativum*, $2n=14$ cromozomi). El a luat în studiu 34 soiuri de mazăre (plantă autogamă), din care au fost reţinute 22 de forme care erau perfect constante şi produceau descendenţi similari. Aceste forme se deosebeau prin una sau mai multe perechi de caracteristici opuse (contrastante) numite *alelomorfe* sau *alele*.

Principalele cercetări au avut drept obiectiv studiul comportării eredităţii la hibrizii rezultaţi în urma încrucişărilor controlate între diferite soiuri de mazăre.

Pe baza acestor cercetări, Mendel a descoperit aşa-numita *ereditate cromozomală* sau *mendeliană*, exprimată în regulile hibridării descoperite de el (în 1865) şi redescoperite independent de către *C. Correns*, *E. v.*

Tschermak şi *H. de Vries*, în anul 1900. Aceste reguli au fost ridicate la rangul de *legi ale eredităţii*. Acestea sînt:

1. *LEGEA UNIFORMITĂŢII PRIMEI GENERAŢII HIBRIDE*, F_1 (datorită dominanţei şi recesivităţii);

2. *LEGEA SEGREGĂRII SAU A DISJUNCŢIEI GENELOR ÎN GENERAŢIA A DOUA HIBRIDĂ*, F_2 (datorită separării sau segregării alelelor în meioza hibridului F_1);

3. *LEGEA COMBINĂRII LIBERE A GENELOR SAU A SEGREGĂRII INDEPENDENTE A CARACTERISTICILOR.*

Mendel considera ereditatea un fenomen care poate fi studiat cu precizie; el face distincţie între ceea ce se vede, deci, între *caracteristică* (totalitatea caracteristicilor reprezintă *fenotipul*) şi acel ceva care stă la baza exteriorizării caracteristicii pe care l-a numit *factor ereditar* (numit ulterior *genă*, a căror totalitate dintr-un organism, alcătuieşte *genotipul*).

În concepţia lui *Mendel*, factorii ereditari (sau genele) sînt independenţi unii de alţii şi fiecare dintre ei guvernează o anumită însuşire observabilă. Comportarea acestor factori este corelată cu comportarea cromozomilor, fapt ce le conferă independenţă.

În organismele diploide (în celulele somatice), factorii ereditari care determină diverse caracteristici se găsesc sub formă de perechi de alele, care se separă în meioză în aşa fel că fiecare gamet primeşte numai una din cele două alele; prin fecundare se realizează din nou perechi de alele. În formele pure genetic, la un locus se găsesc două alele identice, fapt ce indică starea de *homozigoţie*, iar în hibrizi se găsesc alele diferite fapt ce indică starea de *heterozigoţie*.

În ereditatea mendeliană, în hibrid, din cele două alele diferite pentru o caracteristică particulară, se manifestă numai una, iar cealaltă nu se manifestă fenotipic. Alela care se manifestă în hibrid (în stare

heterozigotă) se numește *dominantă*, iar cea care nu se manifestă se numește *recesivă*.

Potrivit teoriei mendeliene a eredității, expresia caracteristicilor nu este influențată de condițiile de mediu.

LEGEA UNIFORMITĂȚII PRIMEI GENERAȚII HIBRIDE F_1. Această lege se manifestă la încrucișarea a două organisme sau genitori *homozigoți*, deosebiți prin una, două, sau mai multe perechi de caracteristici contrastante sau *alelomorfe*.

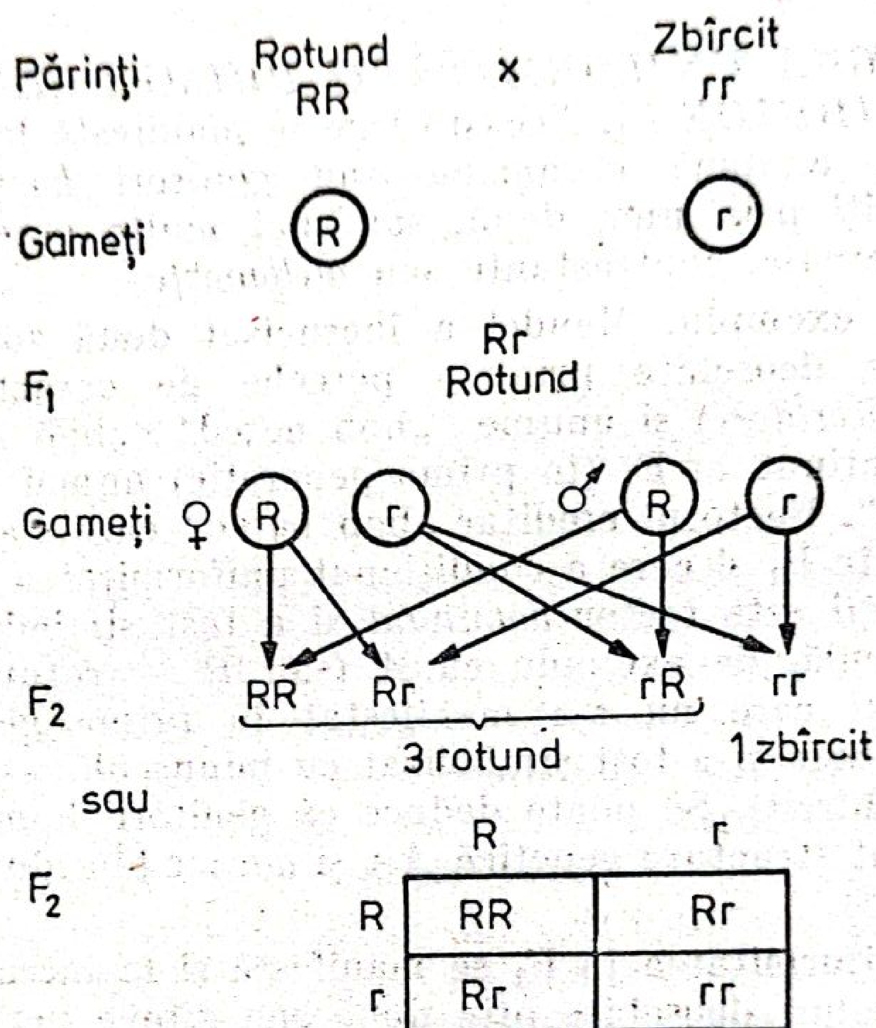
De exemplu, Mendel a încrucișat două soiuri de mazăre deosebite printr-o pereche de caracteristici (*monohibridare*) și anume „bob neted" ×„bob zbîrcit" și a obținut în F_1 (în prima generație) numai „boabe netede". Factorul ereditar „bob neted" care s-a manifestat în F_1 și care a condiționat uniformitatea acestei generații este factor *dominant* și a fost simbolizat cu majusculă, de exemplu cu *A* (sau *R* — rotund), iar factorul care nu s-a manifestat în prima generație este *recesiv* și a fost simbolizat cu minusculă — *a* (sau *r* — zbîrcit). Se poate deduce că genitorii homozigoți au avut structura genetică *AA* și *aa*, iar hibridul F_1*Aa*. (fig. 28).

Uniformitatea în F_1 se manifestă și la încrucișarea unor soiuri deosebite prin două sau cîteva perechi de caracteristici (*dihibridare*, *trihibridare* etc.). De exemplu, la dihibridare, „bob neted, galben" — *AABB* ×„bob zbîrcit, verde" — *aabb*. În prima generație rezultă hibridul *AaBb* care manifestă numai caracteristicile determinate de alelele *A* și *B* („bob neted, galben") care sînt dominante, iar alelele *a* și *b* nu se manifestă fiind recesive.

S-a constatat că este indiferentă poziția în încrucișare a genitorilor (*AA*♀ ×*aa*♂ sau *aa*♀ ×*AA*♂), deoarece fenotipul hibrizilor F_1 rămîne identic în ambele cazuri (se manifestă alela *A*).

LEGEA SEGREGĂRII ÎN GENERAȚIA A DOUA HIBRIDĂ F_2. Pentru obținerea generației F_2, *Mendel* a lăsat să se autopolenizeze hibrizii din prima genera-

ție (F_1). Or, datorită separării sau segregării în meioza hibridului F_1 a alelelor dominante și recesive s-au obținut (în cazul monohibridării) două tipuri de gameți femeli și două tipuri de gameți masculi și anume *A* și



	R	r
R	RR	Rr
r	Rr	rr

Fig. 28. Monohibridare între două soiuri de mazăre: *bob rotund* (caracteristică dominantă *RR*), *bob zbîrcit* (caracteristică recesivă *rr*). În F_1 se manifestă caracteristica *bob rotund*. În F_2 descendența segregă fenotipic în raportul *3 rotund: 1 zbîrcit*, iar genotipic în raportul 1/4 *RR*: 1/2 *Rr*: 1/4 *rr*.

a. Din unirea întîmplătoare a acestora a rezultat generația F_2, *neuniformă*, alcătuită atît din fenotipuri determinate de alela dominantă deci „bob neted" cît și din fenotipuri determinate de alela recesivă, deci „bob zbîrcit", într-un raport dominant — recesiv de 3 : 1.

Schematic, monohibridarea poate fi redată astfel:

Genitori	fenotip	„Bob neted”×„Bob zbîrcit”	
	genotip homozigot	$A\ A$	$a\ a$
Gameți		A	a
Monohibrid F_1	fenotip	Bob neted	
	genotip heterozigot	$A\,a$	
Gameți produși de F_1		A a♀	A a♂
Generație F_2	combinații de gene	AA Aa	aA aa
	fenotipuri	Bob neted	Bob zbîrcit
Raport de segregare în F_2	genotipic	$1/4\ AA : 2/4\ Aa : 1/4\ aa$	
	fenotipic	3 : 1	

Șansele combinării gameților produși de F_1 sînt egale. Ca urmare, dacă F_1 produce circa 50% gameți care conțin alela dominantă A și 50% gameți care conțin alela recesivă a, înseamnă că în stabilirea comportării genelor — alele, pot fi aplicate reguli matematice, de exemplu, a binomului $(a+b)^n$.

Așadar,

$$(1/2\ A+1/2\ a)^2=(1/4\ AA+1/2\ Aa+1/4\ aa)$$

Din formulă reiese că unirea întîmplătoare a gameților în procesul fecundării determină apariția plantelor din generația a doua, caracterizate prin următoarele:

— 25% din plante cu bobul neted au numai alele AA, fiind *homozigote* dominante;

— 50% din plante cu bobul neted au alelele Aa, fiind *heterozigote* dominante;

— 25% din plante cu bobul zbîrcit au numai alele aa, fiind *homozigote* recesive.

Deci segregarea genotipică are loc în raportul 1 : 2 : 1.

Datorită faptului că alela A este dominantă asupra alelei a, indivizii AA și Aa sînt identici fenotipic, ceea

ce face ca raportul între indivizii dominanți și recesivi sau raportul de segregare fenotipică să fie 3 : 1. Aceasta explică legea segregării.

Deci perechile de alele care controlează caracteristici contrastante se separă în timpul formării gameţilor (în meioză) și se unesc întîmplător prin fecundare.

G. Mendel a studiat modul cum are loc segregarea la şapte perechi de caracteristici alelomorfe şi anume: bob neted sau zbîrcit, cotiledoane galbene sau verzi, coaja bobului colorată sau albă, păstăi uniforme sau gîtuite, păstaie necoaptă galbenă sau verde, floare axilară sau terminală, plantă înaltă sau pitică.

În generația I toți indivizii manifestau una din perechea de caracteristici, iar în generația a doua a avut loc segregarea fenotipică în proporție de 3 : 1.

Relevarea deosebirii dintre structura genetică a organismelor și înfățișarea lor, i-au permis genetistului danez *W. Johannsen* (în 1909) să înlocuiască noțiunea de *factor ereditar* cu cea de *genă* și să formuleze noțiunile de *genotip* și *fenotip*.

[Noțiunea de *genotip* indică totalitatea informației genetice (a genelor) conținută de un organism, iar noțiunea de *fenotip* indică caracteristicile (structurale și funcționale) observabile la un organism (sau numai la o parte a acestuia). *Fenotipul* reprezintă rezultatul interacțiunii dintre genotip și mediu. Expresia fenotipică a informației genetice este mediată de *m*ARN care codifică sinteza proteică specifică].

În F_3 (generație rezultată în urma autofecundării indivizilor F_2) genotipul și fenotipul evoluează astfel:

— din plantele F_2 homozigote cu bobul neted, se obțin exclusiv plante cu bobul neted (*AA*);

— din plantele homozigote F_2 cu bobul zbîrcit se obțin exclusiv plante cu bobul zbîrcit (*aa*);

— din plantele F_2 heterozigote (*Aa*) cu bobul neted, rezultă: 25% plante homozigote cu bobul neted (*AA*), 25% plante homozigote cu bobul zbîrcit (*aa*) și 50% plante heterozigote cu bobul neted (*Aa*). Deci plantele heterozigote din F_2 se comportă în descendență asemănător plantelor hibride din F_1.

LEGEA COMBINĂRII LIBERE A GENELOR SAU SEGREGAREA INDEPENDENTĂ A CARACTERISTICILOR. Spre deosebire de primele două legi care se manifestă atît în cazul monohibridării cît și dihibridării etc., legea a 3-a mendeliană se manifestă numai în cazul dihibridării, trihibridării etc.

Să utilizăm, ca exemplu, experiența de dihibridare efectuată de *Mendel*. El a încrucișat „bob neted, de culoare galbenă" ×„bob zbîrcit, de culoare verde" (sau *AABB*×*aabb*). În F_1, cu structura genică *AaBb*, plantele au produs „boabe netede, de culoare galbenă" (caracteristici dominante). Generația F_2 (rezultată din autofecundarea generației F_1) era neuniformă alcătuită din patru clase de fenotipuri într-un raport de 9 : 3 : : 3 : 1 și anume: 9/16 boabe netede și galbene, 3/16 zbîrcite și galbene, 3/16 netede și verzi și 1/16 zbîrcite și verzi. Explicația dată de *Mendel* este următoarea: hibrizii F_1, rezultați din genitori deosebiți prin două perechi de caracteristici, produc 4 tipuri de gameți femeli și 4 tipuri de gameți masculi și anume: *AB*, *Ab*, *aB* și *ab*. Din libera combinare a acestora în procesul fecundării rezultă 16 combinații de gene și 9 genotipuri din segregarea cărora rezultă cele 4 fenotipuri.

Genetistul englez *R. C. Punnett*, a avut inspirația de a include experiențele de hibridare experimentală într-o reprezentare grafică, denumită *tabela de combinații* sau *tabela de șah* sau pătratul lui *Punnett*. În cazul dihibridării efectuate de Mendel, tabela de combinații este redată în figura 29.

Analiza segreganților F_2 relevă faptul că din 516 semințe:

— 315, respectiv 9/16, au ambele caracteristici dominante *A.B.*[1];

---

[1] Caracteristic eredității mendeliene este faptul că dominanța se manifestă atît în cazul cînd gena este în doză dublă *AA* sau *BB*, cît și în cazul cînd este într-o singură doză *Aa* sau *Bb*. Ca urmare, deoarece structura genotipică a fenotipurilor dominante nu este cunoscută, acestea se simbolizează cu o majusculă însoțită de un punct *A.* sau *B.* Fenotipul recesiv este homozigot, ca urmare se poate simboliza și printr-o singură minusculă *a* sau *b*.

— 108, respectiv 3/16 au o caracteristică dominantă și una recesivă *A.bb*;

— 101, respectiv 3/16 au o caracteristică recesivă și una dominantă *aaB.*;

— 32, respectiv 1/16 au ambele caracteristici recesive *aabb*.

Rezultă că alături de cele două tipuri parentale: „bob neted, galben" și „bob zbîrcit, verde", au apărut două fenotipuri noi în care a avut loc o combinare nouă a genelor pe care le-au posedat părinții și anume: „bob neted, verde" și „bob zbîrcit, galben". Se poate aprecia că dihibridul reprezintă *doi monohibrizi* care acționează independent. Această concluzie este argumentată și de frecvența indivizilor în diversele clase de segregare. Astfel, din calcul se poate observa că frecvența caracteristicii „bob rotund" față de „bob zbîrcit" din totalul de 556 semințe analizate este de 423 (315+108) : 133 (101+32), iar a caracteristicii „bob galben" față de „bob verde" de 416 (315+101): : 140(108+32). Acestea reprezintă raporturi apropiate de 3 : 1 (fig. 29).

Folosirea tabelei de combinații evidențiază genotipul descendenților F_2, raportul dintre homozigoți și heterozigoți. Astfel:

Dihibridul F_1: *AaBb*

Genotipuri F_2: Fenotipuri F_2:

1/16 AABB+2/16 AaBB+2/16 AABb+4/16AaBb=9/16 Neted-Galben

1/16 AAbb+2/16 Aabb=3/16 Neted-Verde

1/16 aaBB+2/16 aaBb=3/16 Zbîrcit-Galben

1/16 aabb=1/16 Zbîrcit-Verde

Rezultă că în cazul dihibridării în F_2, cele 16 combinații de gene se repartizează în 9 genotipuri distincte care segregă în raportul (genotipic) de 1 : 2 : 2 : 4 : 1 : : 2 : 1 : 2 : 1 (și un raport fenotipic de 9 : 3 : 3 : 1).

În situația cînd se încrucișează organisme care se deosebesc prin trei perechi de caracteristici, și anume *AABBCC* și *aabbcc*, se formează un trihibrid F_1 cu structura genetică *AaBbCc*, uniform fenotipic (datorită

dominanței alelelor A, B și C). Trihibridul F_1 produce cîte opt tipuri de gameți masculi și femeli: ABC, ABc, AbC, aBC, Abc, aBc, abC, abc. Aceștia, unindu-se la

P	Galben rotund GGRR	x	Verde zbîrcit ggrr
Gameți	(GR)		(gr)
F_1		GgRr Galben rotund	

F_2 ♂ / ♀	(GR)	(Gr)	(gR)	(gr)
(GR)	GGRR Galben rotund	GGRr Galben rotund	GgRR Galben rotund	GgRr Galben rotund
(Gr)	GGRr Galben rotund	GGrr Galben zbîrcit	GgRr Galben rotund	Ggrr Galben zbîrcit
(gR)	GgRR Galben rotund	GgRr Galben rotund	ggRR Verde rotund	ggRr Verde rotund
(gr)	GgRr Galben rotund	Ggrr Galben zbîrcit	ggRr Verde rotund	ggrr Verde zbîrcit

Fig. 29. Dihibridare între două soiuri de mazăre: *bob galben, rotund* × *bob verde, zbîrcit*. Dihibridul F_1 manifestă caracteristicile *galben rotund* controlate de alelele dominante G și R. În F_2 descendența segregă în patru fenotipuri în raportul 9/16 : 3/16 : 3/16 : 1/16, iar genotipic în 9 genotipuri în raportul 4 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 : 1.

întîmplare, formează în F_2 64 de combinații de gene și 8 tipuri de organisme care segregă în raportul fenotipic de 27 : 9 : 9 : 9 : 3 : 3 : 3 : 1, după cum urmează:

27/64 cu trei caracteristici dominante $A.B.C.$;

9/64 cu două caracteristici dominante și una recesivă $A.B.cc$;

9/64 cu două caracteristici dominante și una recesivă $A.bbC.$;

9/64 cu două caracteristici dominante și una recesivă $aaB.C.$;

3/64 cu o caracteristică dominantă și două recesive $A.bbC$;

3/64 cu o caracteristică dominantă și două recesive $aaB.cc$;

3/64 cu o caracteristică dominantă și două recesive $aabbC.$;

1/64 cu trei caracteristici recesive $aabbcc$.

Din analiza celor 8 clase de segregare fenotipică F_2 reiese că două clase manifestă structura genetică parentală ($A.B.C.$ și $aabbcc$), iar 6 dintre acestea manifestă fenomenul combinării libere a genelor, 3 pentru un locus: $A.B.cc$, $A.bbC.$, $aaB.C.$ și 3 pentru doi loci $A.bbcc$, $aaB.cc$, $aabbC$.

În general, în polihibridare (încrucișarea de genitori ce se deosebesc prin mai multe perechi de factori ereditari) crește numărul tipurilor de gameți precum și a fenotipurilor și genotipurilor formate. De exemplu, la 10 loci heterozigoți, numărul tipurilor de gameți formați în F_1 este de 1 024, iar a combinațiilor posibile de gene ajunge la 1 048 576. În această situație șansa a doi descendenți de a primi aceeași combinație de gene (ca a părinților) este practic imposibilă.

Combinarea liberă a genelor în cazul dihibridării sau polihibridării de *tip Pisum* este o consecință a faptului că locii implicați în controlul celor 7 perechi de caracteristici utilizate de Mendel erau localizați întîmplător cîte *unul* în fiecare din cele 7 perechi de cromozomi ale mazării (la care $2n=14$ cromozomi). Ca urmare, în aceste experiențe pare că un cromozom ar avea un singur locus, din care cauză *ereditatea mendeliană* se mai numește și *ereditate cromozomală*. În realitate, într-un cromozom sînt localizați mai mulți loci, care formează un *grup de înlănțuire* sau un *grup linkage*, fenomen descoperit și studiat începînd cu anul 1910, de genetistul american *T. Morgan* și colaboratorii săi.

Faptul că principiile geneticii mendeliene au fost descoperite pe baza studiilor efectuate asupra mazării a

făcut ca acestea să fie asociate cu obiectul de cercetare, de unde și denumirea de *ereditale de tip Pisum*. În realitate legile eredității descoperite de *Mendel* au valabilitate atît în lumea plantelor, cît și a animalelor, ele constituind baza științifică a geneticii. Marile merite ale lui *G. Mendel*, în fundamentarea geneticii ca știință sînt recunoscute unanim în lumea științifică. În memoria marelui savant, la Brno (R. S. Cehoslovacă), orașul în care Mendel și-a desfășurat activitatea a fost organizat muzeul „Mendelianum", în care sînt păstrate lucrările, aparatura utilizată și obiectele personale ale acestuia.

ÎNCRUCIȘAREA DE TESTARE SAU TESTCROSS

Așa cum s-a menționat, structura genotipică a fenotipurilor dominante nu este cunoscută, ea putînd fi reprezentată atît de o structură genetică homozigotă (*AA*, *AABB* etc.), cît și de o structură genetică heterozigotă (*Aa*, *AaBb* etc.).

Pentru verificarea structurii genetice a descendenților hibrizi dominanți (*Aa*, *AaBb* etc.), Mendel a elaborat și aplicat așa-numita metodă *testcross*. Metoda constă în *retroîncrucișarea* sau *backcrossarea* hibrizilor F_1 cu părintele *homozigot recesiv* sau cu un *tester recesiv*. De exemplu, a testat monohibridul dominant F_1 *Aa* cu testerul recesiv *aa*. Ca urmare, în descendența testcross se formează jumătate plante heterozigote care manifestă caracteristica dominantă „bob neted" (*Aa*) și jumătate plante homozigote cu „bob zbîrcit" (*aa*). (Dacă plantele cu fenotip dominant sînt homozigote *AA*, la încrucișarea cu un genitor recesiv *aa* vor produce în prima descendență numai indivizi cu fenotip dominant heterozigoți 100% *Aa*,

iar dacă plantele din F_1 *Aa* se polenizează — backcrossează — cu polen de la plantele cu bob neted *AA*, atunci se obţin numai plante cu boabe netede din care 50%

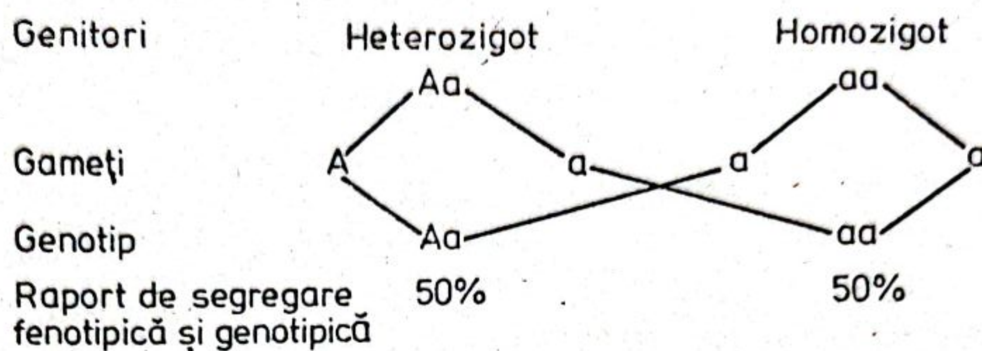


Fig. 30. Structura genitorilor, a gameţilor şi segregarea fenotipică şi genotipică în cazul testării unui monohibrid.

sînt însă homozigote *AA* şi 50% heterozigote *Aa*).

Schematic testcrossul poate fi reprezentat ca în fig. 30.

Deci, prin testarea unui monohibrid, descendenţa testcross segregă în raportul genotipic şi fenotipic de 1:1. Acest mod de segregare este determinat de faptul că monohibridul produce două tipuri de gameţi: unul cu alela *A*, celălalt cu alela *a*, în proporţie egală (50%:50%), iar testerul recesiv fiind homozigot produce un singur tip de gameţi, cu alela *a*.

După cum s-a arătat un dihibrid F_1 *AaBb* produce patru grupe de gameţi în proporţie egală: 1/4 *AB*, 1/4 *Ab*, 1/4 *aB* şi 1/4 *ab*. Ca urmare, la testarea unui dihibrid F_1 cu un tester recesiv, de exemplu *AaBb*×*aabb* (testerul produce un singur tip de gameţi, *ab*), descendenţa testcross segregă în patru clase genotipice şi fenotipice în proporţii egale şi anume: 1/4 *AaBb*: :1/4 *Aabb*: 1/4 *aaBb*: 1/4 *aabb*, sau 1:1:1:1.

Tot datorită mecanismului de producere a gameţilor de către heterozigotul F_1 la testarea unui trihibrid (*AaBbCc*×*aabbcc*; trihibridul produce opt grupe de gameţi în proporţii egale: 1/8 *ABC*, 1/8 *ABc*, 1/8*AbC*, 1/8 *aBC*, 1/8 *Abc*, 1/8 *aBc*, 1/8 *abC*, 1/8 *abc*), segregarea genotipică şi fenotipică a descendenţei testcross va avea loc în opt clase în proporţii egale şi anume: 1:1:1:1:1:1:1:1.

TEORIA CROMOZOMICĂ A EREDITĂȚII

Contribuții de seamă la cunoașterea rolului cromozomilor în ereditate l-au adus biologii *W. S. Sutton* și *T. Boveri* (1902). Aceștia au presupus că genele (factorii ereditari) sînt localizate în cromozomi. Ceva mai tîrziu (după anul 1910), *Thomas Hunt Morgan* (1866—1945), profesor la Universitatea Columbia din New York, și colaboratorii săi *C. B. Bridges*, *A. A. Sturtevant* și *H. J. Muller*, pe baza a numeroase studii de citogenetică au elaborat *teoria cromozomică a eredității*. Potrivit acestei teorii, genele sînt localizate în cromozomi, în poziții stabile numite *loci* (singular *locus*). Genele se prezintă sub variante diferite denumite *alele*, care determină caracteristici contrastante. Diversele alele la un locus au apărut în urma mutației genice.

Teoria cromozomică a eredității asociază genele cu cromozomii. Principala teză a teoriei cromozomice a eredității stabilește că *genele sînt aranjate liniar în cromozomi*. O altă teză precizează că genele dintr-un cromozom sînt *înlănțuite* sau *linkage*. Fenomenul de linkage definește *tendința genelor dintr-o pereche de cromozomi* sau *grup linkage de a intra în gameți în combinația parentală*.

Asocierea genelor în cromozomi sau grupe linkage a fost demonstrată experimental. În acest scop Morgan și colaboratorii săi au efectuat încrucișări între diferite mutante de *Drosophila melanogaster*. Astfel, la încrucișarea unei musculițe de tip sălbatic cu *corp cenușiu* și *aripi normale* (BBV_gV_g) cu o musculiță mutantă cu *corp negru* și *aripi vestigiale* (bbv_gv_g), în F_1 au dominat alelele BV_g. În această situație, conform legii a 3-a mendeliene, în F_2 ar fi trebuit să se obțină 4 clase fenotipice de indivizi: 9/16 de tip sălbatic (cu corp cenușiu și aripi normale), 3/16 cu corp cenușiu și aripi vestigiale, 3/16 cu corp negru și aripi normale și 1/16 cu corp negru și aripi vestigiale, deci într-un raport fenotipic de 9:3:3:1. (fig. 31)

În realitate, în F_2, în loc de 4 clase fenotipice, s-au obținut adeseori numai două clase de indivizi:

50% de tip sălbatic și 50% de tip mutant. Morgan și colaboratorii săi au constatat că acest tip de segregare se manifestă și în cazul altor mutante. Ca urmare, au

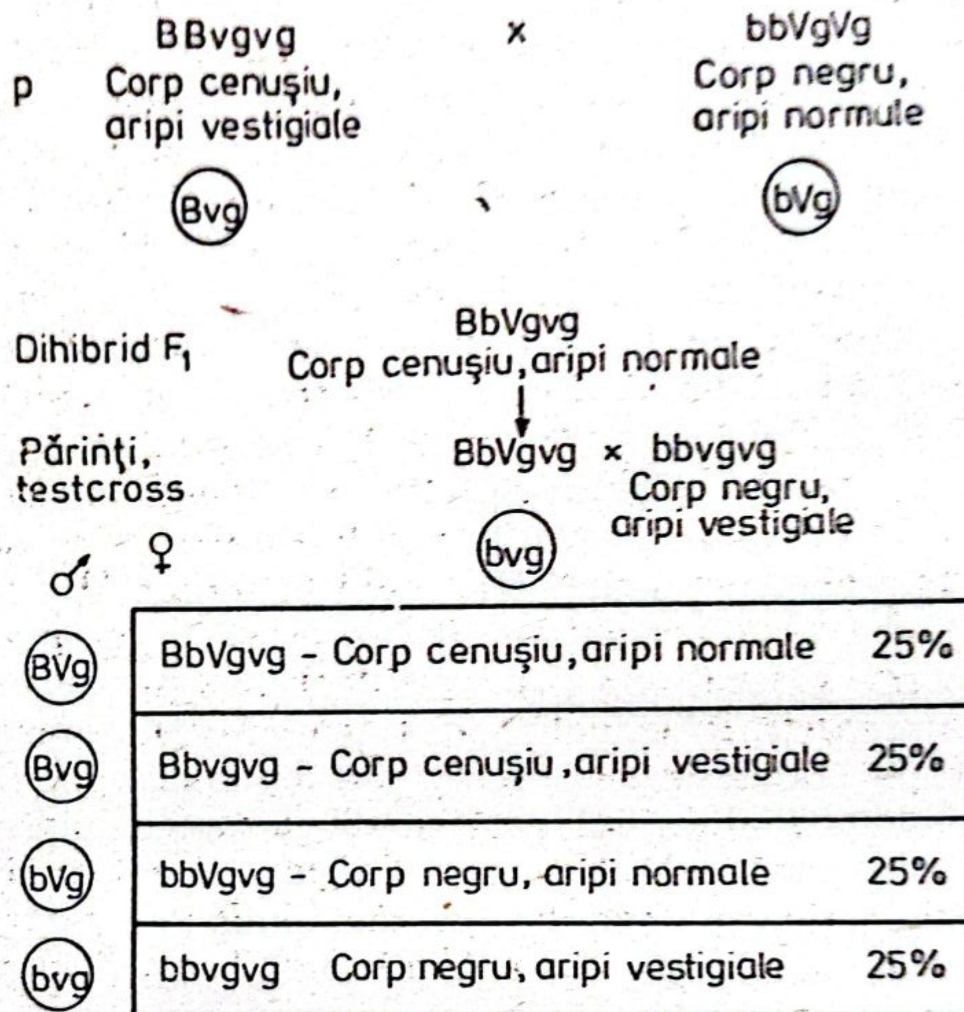


Fig. 31 Tipurile de descendenți și raportul așteptat (teoretic) la *Drosophila melanogaster* la testarea dihibridului *BbVgvg* ♂ × *bbvgvg* ♀ în cazul unor gene independente (dacă aceste două gene ar fi independente segregarea fenotipică ar trebui să fie 1/4 : 1/4 : 1/4 : 1/4).

considerat că acest tip de segregare este condiționat de situarea celor două gene (care determină culoarea corpului și forma aripii) în același cromozom, deci *fenomenului de linkage*, care face ca cele două gene să intre în gameți împreună.

Astfel, cele aproximativ 540 de mutante studiate la *Drosophila melanogaster* sînt repartizate în 4 *grupe linkage*, după cum urmează:

grupul I (cromozomul I sau X) 141 mutante

grupul II (cromozomul II) 228 mutante
grupul III (cromozomul III) 156 mutante
grupul IV (cromozomul IV) 12 mutante.

Rezultă că într-un cariotip numărul grupelor linkage este egal cu numărul haploid de cromozomi (cu numărul perechilor de cromozomi).

Genele localizate în acelaşi cromozom se transmit la descendenţi împreună, în bloc, formînd un singur grup linkage. Deci, la fiecare specie, numărul de grupe linkage corespunde numărului de perechi de cromozomi sau cu numărul haploid de cromozomi (n). De exemplu, la *D. melanogaster* ($2n=8$) există 4 grupe linkage ($n=4$), la om ($2n=46$) există 23 grupe linkage ($n=23$), la porumb ($2n=20$) există 10 grupe linkage ($n=10$) etc. Pînă în prezent grupele linkage de gene au fost studiate la puţine specii (drosophila, porumb, mazăre, grîu ş.a.).

La alte specii, deşi numărul de cromozomi este cunoscut, au fost descoperite doar unele dintre grupele linkage de gene. De exemplu, la sfecla de zahăr (*Beta vulgaris*, $2n=18$) au fost detectate numai 5 grupe linkage din 9, la cartof (*Solanum tuberosum*, $2n=48$) au fost detectate 10 grupe linkage din 24, la iepure (*Lepus cuniculus*, $2n=44$) au fost detectate doar 11 grupe linkage din 22 etc.

Este foarte important de reţinut faptul că dacă genele situate în cromozomi diferiţi (deci genele independente, de tip mendelian) se transmit independent şi în cazul dihibridării, trihibridării etc., segregă mendelian (în raportul 9:3:3:1, 27:9:9:9:3:3:3:1 etc.), genele linkage fiind situate în acelaşi cromozom se transmit înlănţuite, în bloc.

A treia teză a teoriei cromozomice a eredităţii prevede că între genele linkage situate în cromatidele nesurori ale cromozomilor homologi *poate avea loc un schimb reciproc de segmente sau blocuri homologe de gene, fenomen numit* **crossing over**. Acest fenomen se desfăşoară la începutul meiozei şi se observă fenotipic cînd locii cromozomilor homologi sînt heterozigoţi. Feno-

menul de crossing over se manifestă în cazurile în care linkage-ul este incomplet.

Din cele prezentate rezultă că înlănţuirea genelor se poate manifesta fie printr-un *linkage complet* sau *absolut*, fie printr-un *linkage incomplet.*

LINKAGE COMPLET. Hibridarea experimentală între diverşi loci a relevat manifestarea fenomenului de linkage complet la sexul mascul a *D. melanogaster*, caz în care lipseşte complet crossing overul. Astfel, la încrucişarea „*corp negru, aripi normale* × *corp cenuşiu, aripi vestigiale*“ (caracteristici controlate de doi loci situaţi în cromozomul II), în F_1 toţi indivizii aveau *corp cenuşiu, aripi normale.* Dacă un asemenea individ dihibrid F_1 de sex mascul este încrucişat cu un individ femel homozigot dublu recesiv (*corp negru, aripi vestigiale*), în descendenţa testcross se obţin numai două clase fenotipice şi anume tipurile parentale în raport de 1/2 *corp negru, aripi normale*: 1/2 *corp cenuşiu, aripi vestigiale.* Acest tip de segregare testcross (deosebit de descendenţa testcrossului la un dihibrid de *tip Pisum* care segregă în raport de 1:1:1:1) este determinat de *linkage-ul absolut* (şi de lipsa crossing overului) la sexul mascul de *D. melanogaster.* (fig. 32).

Pentru a indica tocmai existenţa linkage-ului, simbolul celor două perechi de alele implicate nu se mai scriu succesiv ca în cazul genelor independente (*AABB*, respectiv *aabb*), ci alelele se prezintă asociate pentru fiecare membru al cromozomului homolog. De exemplu, încrucişare „*corp negru, aripi normale* × *corp cenuşiu, aripi vestigiale*“ se simbolizează $(bV_g)(bV_g) \times (Bv_g)(Bv_g)$ sau $\frac{bV_g}{bV_g} \times \frac{Bv_g}{Bv_g}$; testcrossul se simbolizează: $♂\frac{bV_g}{Bv_g} \times \frac{bv_g}{bv_g}♀$, iar linkage-ul complet se simbolizează:

$$♂ bV_g \times bv_g ♀ = \frac{bV_g}{bv_g}$$ –50% corp negru, aripi normale

$$♂ Bv_g \times bv_g ♀ = \frac{Bv_g}{bv_g}$$ –50% corp cenuşiu, aripi vestigiale.

Absenţa crossing overului la masculii de Drosophila (dar şi la sexul feminin al viermelui de mătase) are o explicaţie citologică şi anume: în timpul spermatogenezei cromozomii homologi se împerechează normal

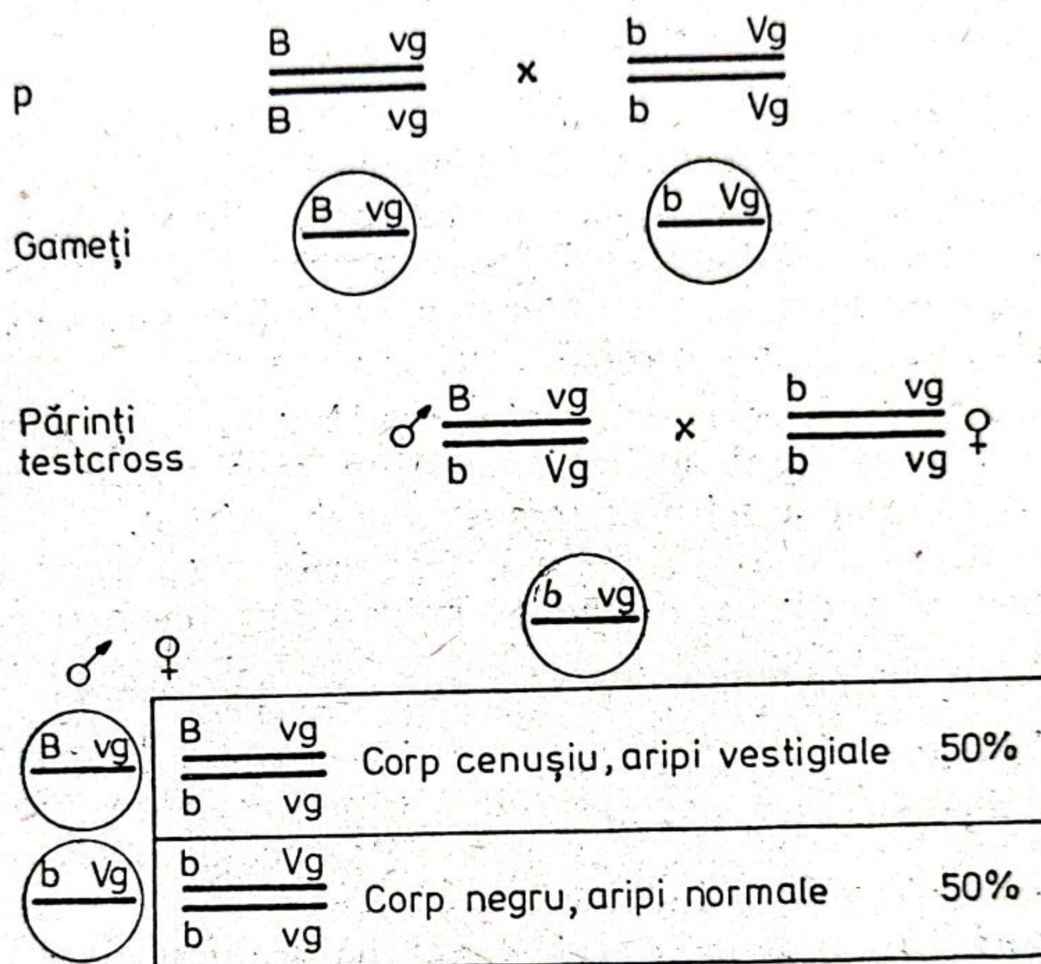


Fig. 32. Fenomenul de linkage complet sau absolut la *Drosophila melanogaster* relevat prin încrucişarea (*Bvg*) (*Bvg*)×(*bVg*) (*bVg*), urmată de testarea heterozigoţilor masculi F_1 (*Bvg*) (*bVg*) cu femele dublu recesive (*bvg*) (*bvg*). Linkage-ul complet la sexul mascul determină în descendenţa testcross o segregare în cele două tipuri parentale, deci un raport de 1 : 1.

formînd bivalenţi în spermatocite, totuşi între cele 4 cromatide dispuse paralel nu apar *puncte de contact* sau *chiasme* şi nu are loc nici un schimb de segmente cromatidice. Apoi cromatidele devin cromozomi independenţi şi migrează fiecare într-un gamet care devine apoi spermatozoid.

Unele cercetări au relevat că şi la alte specii la sexul heterogametic este inhibat crossing overul. S-a

stabilit de asemenea că între heterozomii X şi Y şi Z şi W nu are loc crossing over, fapt cu deosebită semnificaţie biologică, deoarece pe această cale se asigură integritatea structurii şi funcţiilor acestor cromozomi cu rol esenţial în determinismul genetic al sexelor şi în păstrarea raportului între sexe.

LINKAGE INCOMPLET SAU PARŢIAL. Linkage-ul este rareori complet. Obişnuit, el se rupe determinînd schimbarea reciprocă a unor structuri linkage homologe corespunzătoare, printr-un proces sau fenomen numit *crossing over*. Fenomenul de crossing over determină *recombinarea genică* sau *crossovere*.

La organismele eucariote crossing overul poate apărea în timpul meiozei (*crossing over meiotic* sau *germinal*) sau a mitozei (*crossing over mitotic*). La organismele procariote (viruşi, bacterii, alge verzi-albastre) crossing overul poate apărea fără meioză sau mitoză (caracteristice eucariotelor) prin procese analoge la nivelul moleculelor de acizi nucleici.

Fenomenul de crossing over şi recombinările genice se detectează tot prin hibridări experimentale şi studiul fenomenului de segregare. Dar, comparativ cu segregarea genelor independente care în F_2 determină combinaţii noi de gene şi de exemplu, la dihibridare un raport fenotipic de 9:3:3:1, *segregarea genelor linkage este dată de distanţa dintre aceste gene în cromozom*. Înseamnă că la experimentarea cu două perechi de gene, descendenţa va segrega tot în 4 fenotipuri (nu însă în raportul de 9:3:3:1 ca în cazul genelor independente), dar într-un raport în care predomină cele două tipuri parentale care apar într-o frecvenţă egală (tot într-o frecvenţă egală apar şi cele două tipuri recombinante). Frecvenţa recombinărilor sau crossoverelor este mult mai mică (maximum 50% din descendenţi) în funcţie tocmai de tăria linkage-ului, *care este mai intens cînd diverşii loci sînt foarte apropiaţi* şi *scade cînd genele din acelaşi grup sînt mai îndepărtate*. Intensitatea linkage-ului între două gene din cromozom este reflectată de *numărul de combinaţii prin crossovere*, formate între cele două gene în meioză. Ca urmare,

suma ruperii cromatidelor între două gene foarte apropiate este mai mică față de altele situate la distanță. Rezultă că ruperea cromatidelor și reunirea este mai mult sau mai puțin întîmplătoare de-a lungul întregii lungimi a cromozomului și că *numărul de ruperi între oricare două gene sau două puncte este direct proporțională cu distanța între cele două gene sau cele două puncte.*

O unitate de distanță echivalentă cu un procent crossing over a fost numită *unitate Morgan, unitate de hartă sau unitate de recombinare.*

Pentru detectarea *linkage-ului incomplet meiotic*, Morgan a experimentat cu *D. melanogaster* utilizînd aceeași genitori ca în cazul *linkage-ului complet*, și anume: *corp negru, aripi normale* × *corp cenușiu, aripi vestigiale* $\left(\frac{bV_g}{bV_g}\right) \times \left(\frac{Bv_g}{Bv_g}\right)$. Foarte important este însă faptul că dintre descendenții F_1 *a folosit pentru testare indivizi de sex femel*, iar ca formă tester musculițe dublu recesive *(corp negru, aripi vestigiale)* de sex mascul (deci testcrossul are formula $\frac{bV_g}{Bv_g}$♀ × $\frac{bv_g}{bv_g}$♂). (fig. 33).

S-a constatat că heterozigotul femel F_1 formează patru tipuri de gameți (două de tip parental: bV_g și Bv_g) și (două de tip recombinant, cu crossing over: BV_g și bv_g). Ca urmare, în descendența testcross a dihibridului femel F_1 apar patru fenotipuri, dar într-un raport diferit, în funcție de proporția reprezentată de grupele de gameți (produși de femela F_1). Astfel, combinațiile parentale sau *non-crossoverele*: $\frac{bV_g}{bv_g}$ și $\frac{Bv_g}{bv_g}$, datorită linkage-ului sînt majoritare, reprezentînd împreună 83% (41,5+41,5), iar *recombinările* sau *crossoverele*: $\frac{BV_g}{bv_g}$ și $\frac{bv_g}{bv_g}$, apar în proporție de 17% (8,5+8,5). Raportul dintre fenotipuri este dat de proporția tipurilor de gameți formate de dihibridul femel F_1 deoarece testerul fiind dublu recesiv produce numai un singur tip de gameți. Deci distanța relativă între locii

b și v_g din cromozomul II a *D. melanogaster* este de 17% sau 17 *unități Morgan* (fig. 34).

Distanța dintre două gene relevată prin frecvența crossoverelor este relativă dar *constantă* de la o gene-

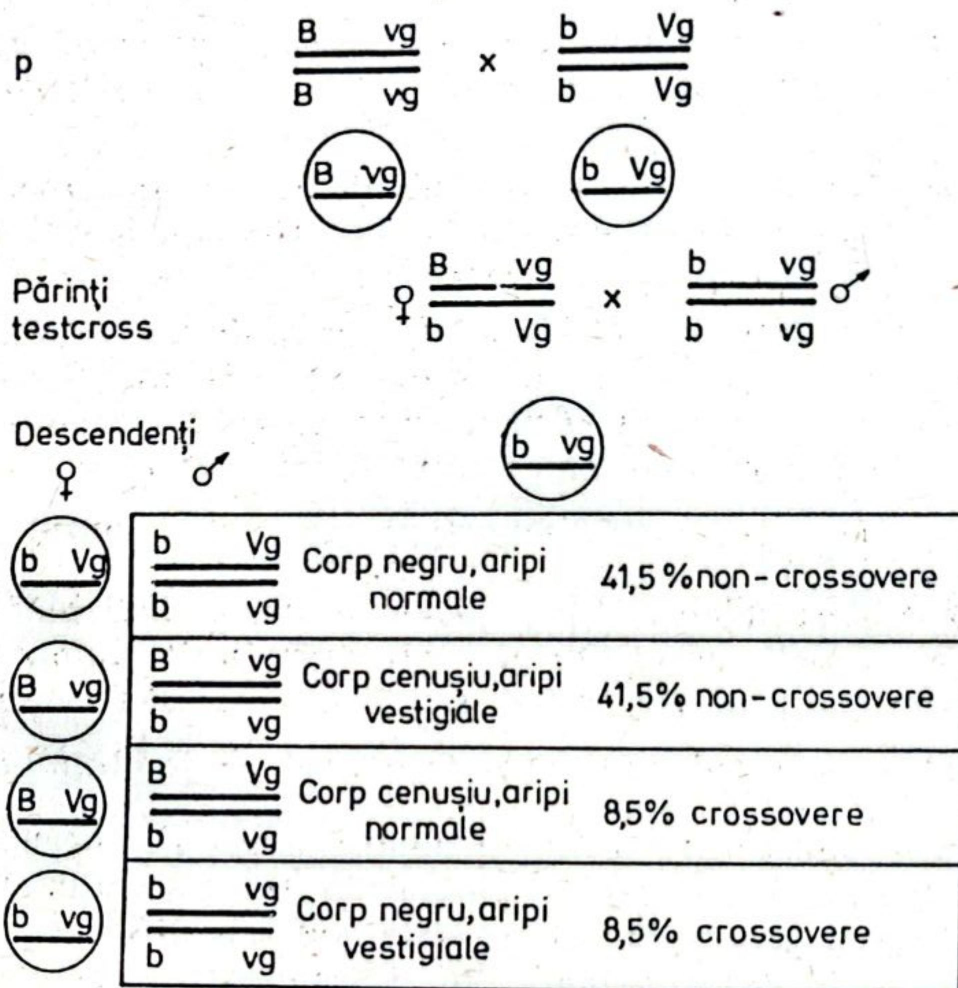


Fig. 33. Linkage incomplet între doi loci la *Drosophila melanogaster* ilustrat prin încrucișarea *corp cenușiu, aripi vestigiale (Bvg) (Bvg)×corp negru, aripi normale (bVg) (bVg)* și testarea femelei F_1 cu un mascul dublu recesiv *(bvg) (bvg)*. Linkage-ul incomplet între cei doi loci determină apariția în descendența testcross a unor indivizi de tip parental sau non-crossovere (83%) și a unor crossing overe sau crossovere (17%).

rație la alta, deoarece poziția ocupată de diverși loci în cromozom este stabilă.

Frecvența recombinărilor este foarte redusă și rareori este de 50% — considerată limita superioară.

Această valoare de 50% corespunde unei segregări independente a caracterelor conform legilor mendeliene.

P $\frac{B \quad Vg}{B \quad Vg}$ × $\frac{b \quad vg}{b \quad vg}$

Părinți, testcross ♀ $\frac{B \quad Vg}{b \quad vg}$ × $\frac{b \quad vg}{b \quad vg}$ ♂

Descendenți ♀ ♂ (n vg)

(B Vg)	$\frac{B \quad Vg}{b \quad vg}$	Corp cenușiu, aripi normale	41,5%
(b vg)	$\frac{b \quad vg}{b \quad vg}$	Corp negru, aripi vestigiale	41,5%
(B vg)	$\frac{B \quad vg}{b \quad vg}$	Corp cenușiu, aripi vestigiale	8,5%
(b Vg)	$\frac{b \quad Vg}{b \quad vg}$	Corp negru, aripi normale	8,5%

Fig. 34. Verificarea frecvenței crossing overului la *Drosophila melanogaster* între locii *(bvg)* prin încrucișarea unor musculițe *dublu dominante (BVg)(BVg)*×*dublu recesive (bvg)(bvg)* și testarea femelei F_1 *(BVg)(bvg)* ♀ ×*(bvg)(bvg)* ♂ . Descendența testcross segregă tot în raportul 83% non-crossovere: 17% crossovere.

Explicația bazei fizice a crossing overului a fost dată de *F. A. Janssens* (1909). Acesta a observat și a considerat că punctele de contact sau *chiasmele* ce apar în meioză (profaza I, stadiul de *diplonem*), între cromatidele nesurori ale cromozomilor homologi, conferă baza fizică pentru fenomenul de crossing over.

Deoarece procentul de recombinare prin crossing over nu depășește 50%, se consideră că în mod sigur crossing overul se petrece în stadiul de patru cromatide (două cromatide pentru fiecare membru din bivalent), fiind afectate doar două din cromatidele nesurori.

Apariţia chiasmelor de-a lungul cromozomului se face într-o anumită ordine. Prima chiasmă, şi deci primul crossing over, este situată la o distanţă oarecare de centromer, numită *distanţă diferenţială* care este caracteristică pentru diverşi cromozomi. Pe acelaşi braţ al unui cromozom chiasmele sînt situate la anumite distanţe caracteristice, numite *distanţe de interferenţă*. Distanţele de interferenţă sînt constante pentru cromozomii aceleiaşi specii, fiind determinate de faptul că un crossing over simplu apărut într-o anumită poziţie influenţează negativ apariţia unui alt crossing over (a unui crossing over dublu) pe o distanţă oarecare.

Într-o pereche de cromozomi homologi cu centromerul localizat, din care un membru poartă alelele recesive *a* şi *b*, iar celălalt alelele dominante *A* şi *B*, ordinea liniară a genelor este: centromer — *A*—*B*. Dacă se formează o chiasmă între locii *A* şi *B*, ea indică un crossing over între două cromatide nesurori. În metafaza I acest bivalent este coorientat pe fus cu centromerul unui homolog deasupra plăcii ecuatoriale, iar cu celălalt centromer dedesubt. În anafaza I, cei doi centromeri ai bivalentului se deplasează spre polii opuşi. În urma segregării anafazice (în anafaza I) o diadă cromozomală va fi constituită din cromatidele *AB* şi *Ab*, iar cealaltă din cromatidele *ab* şi *aB*.

Apariţia crossing overului este afectată de fenomenul de *interferenţă*. Astfel, un crossing over poate inhiba (*interferenţă pozitivă*) pe o anumită distanţă un al doilea schimb reciproc de segmente cromatidice. Raportul dintre numărul crossing overelor duble observate şi numărul crossing overelor duble aşteptate constituie *coeficientul de coincidenţă*. Cînd valoarea acestui raport este 0, apariţia unui crossing over elimină cu totul posibilitatea formării unui al doilea crossing over într-o poziţie apropiată. Cînd însă raportul este egal cu 1, apariţia unui crossing over nu are nici o influenţă asupra apariţiei altor crossing overe. Se consideră că există un raport unitar între numărul chiasmelor şi al crossing overelor.

Mecanismul crossing overului nu este pe deplin elucidat. Crossing overul este explicat prin: *ipoteza*

ruperii cromatidelor și schimbului reciproc de segmente cromatidice și *ipoteza copierii alternative* (replicarea selectivă a cromatidelor în timpul sintezei materialului cromozomal).

Prima ipoteză a fost elaborată de *F. A. Jannsens* (1909, 1924), *C. D. Darlington* (1929) și *J. H. Taylor* (între 1957 și 1963). Potrivit acestei teorii în meioză în stadiul de pachinem, cromozomii homologi, unul patern și unul matern, intră în sinapsă (conjugă), formînd bivalenți. În stadiile de pachinem și diplonem, devine evident faptul că fiecare membru al bivalentului s-a duplicat longitudinal, ceea ce face ca fiecare să apară format din două cromatide surori. Ca urmare, fiecare cromozom apare alcătuit din patru cromatide (două cîte două surori, respectiv nesurori). Între cromatidele nesurori ale unei perechi de cromozomi homologi apar *chiasme* (gr. sing. *chiasma*, plural *chiasmata* — cruce, încrucișare), care potrivit *teoriei chiasmatipiei*, reprezintă rezultatul direct al crossing overului. Deci, potrivit acestei teorii schimbul de segmente cromatidice egale în cadrul cromozomului homolog are loc înainte de stadiul de diplonem. În consecință, din cele patru cromatide, care la sfîrșitul meiozei devin cromozomi independenți și se distribuie cîte unul în gameți, jumătate sînt de tip parental (noncrossoverele), iar jumătate pot fi recombinante (crossovere) datorită schimbului reciproc de gene. Deci chiasma poate afecta doar două din cele patru cromatide ale unei perechi de cromozomi homologi. Așadar, frecvența crossing overului între cromatidele nesurori ale unui cromozom homolog nu poate depăși 50% (afectează două din cele patru cromatide).

În cadrul unui cromozom homolog pot apărea mai multe chiasme indicînd fenomenul ce *crossing over dublu, triplu, cvadruplu* etc. Numărul chiasmelor este corelat cu lungimea cromozomului fiind caracteristic pentru fiecare pereche de cromozomi homologi. Numărul maxim de chiasme — 12 — a fost determinat pentru unul dintre cromozomii lungi de *Vicia faba*.

Potrivit teoriei *copierii alternative* sau *recombinării copy-choice*, elaborată de *J. Belling* (1932) și dezvol-

tată de *J. Lederberg* (1955), în timpul replicării semiconservative a ADN, noile catene după ce copiază o parte a informației genetice, schimbă reciproc catenele matrice, încorporînd astfel prin copiere o altă informație genetică. În această situație, dacă catenele parentale conțin alte alele, se produce un cromozom recombinant care posedă unele alele de la o catenă și altele de la cealaltă catenă.

Între teoria *chiasmatipiei* și teoria *copy-choice* există o mare deosebire. În primul caz cromozomii recombinanți urmează să moștenească efectiv segmente din cei doi cromozomi parentali, în timp ce în al doilea caz, cromozomii recombinanți produși prin copiere alternativă urmează să fie alcătuiți din material nou, produs al sintezei.

Alături de crossing overul meiotic sau germinal, s-a pus în evidență și un *crossing over mitotic* sau *somatic*. *C. Stern* (1936) a detectat crossing overul mitotic la *Drosophila melanogaster*.

Ulterior crossing overul somatic a fost studiat de *G. Pontecorvo* (1954) la *Aspergillus nidulans*, apoi acest fenomen a fost studiat și la alte microorganisme la care predomină haplofaza (viruși, bacterii, ciuperci etc.). *J. H. Taylor* (1958) a evidențiat recombinarea mitotică la plante.

La animale și la plante crossing overul somatic apare rar, în timp ce la microorganisme recombinarea somatică apare cu o mare frecvență. Așa cum a fost deja menționat pentru viruși și bacterii, crossing overul are o mare importanță în procesul evoluției, precum și în acțiunea de întocmire a hărților cromozomale.

Cercetarea crossing overului somatic la animale și plante, a relevat faptul că el își are originea în profaza mitozei sau înainte de aceasta în timpul interfazei sau în trecerea de la interfază la profaza mitotică, dar într-un stadiu cînd cromozomi heterozigoți se găsesc în structura de patru fire cromatice. Datorită crossing overului mitotic pe același individ se dezvoltă țesuturi cu și fără recombinare (un mozaic genetic).

La *D. melanogaster*, *C. Stern*, a cercetat indivizi femele cu structura $\frac{y+}{+sn}$ și fenotipic de tip sălbatic (*y*—corp galben; + — corp de tip sălbatic; *sn* — țepi arși — pîrliți, + — peri normali). Aceste gene sînt linkage în cromozomul X. Dacă în timpul profazei timpurii într-o asemenea celulă are loc ruperea și reunirea unor segmente între cele patru fire cromatice ale unui cromozom homolog, pot rezulta celule homozigote pentru alelele recesive $\left(\frac{y}{y} \text{ sau } \frac{sn}{sn}\right)$. Asemenea musculițe femele sînt rare, dar normale, la care însă culoarea corpului și forma perișorilor apar în mozaic din cauza segregării mitotice.

În ceea ce privește crossing overul meiotic s-a constatat la Drosophila și la alte organisme că acest fenomen poate fi influențat de o serie de factori cum sînt *sexul*, *vîrsta*, precum și de condițiile de creștere ale organismului (*temperatură*, *hrană* etc.).

Faptul că la masculul de Drosophila și la alte insecte nu are loc crossing over denotă că acest fenomen se află sub un anumit control genetic.

CROSSING OVER INTRAGENIC

În concepția lui Morgan și a colaboratorilor săi, genele sînt unități elementare ale eredității care reprezintă în același timp unități de *funcțiune*, de *mutație* și de *recombinare*. Potrivit acestei concepții crossing overul are loc *între gene*, și *niciodată în interiorul genei*.

Unele cercetări, în special după anul 1950, au relevat cazuri în care diverși loci se comportau ca și cînd erau compuși din *subloci* sau *subgene* separabile prin *crossing over intragenic*.

Studiul mutanților la bacteria *Salmonella typhimurium* (*M. Demerec* și col., 1955) și la bacteriofagul T4 (*S. Benzer*, 1955), a adus însemnate contribuții la relevarea mecanismului crossing overului intragenic.

Benzer (1957) a studiat mutațiile care se produc în regiunea rII de la bacteriofagul T4. După cum s-a precizat anterior la regiunea rII se află genele *r*IIA și *r*IIB, care sînt adiacente și independente funcțional. Mutanții *r* (rapid) determină un ciclu de viață mai scurt al bacteriofagului și ca urmare are loc liza mai rapidă a bacteriei-gazdă comparativ cu tipul sălbatic r^+.

Totodată mutanții *r* formează plaje mai mici și mai clare decît tipul sălbatic.

Cercetările au stabilit că bacteriofagul de tip sălbatic (T4r^+) crește atît pe sușa B cît și pe sușa K12 (λ — lambda) de *E. coli* (sușa K12 poartă profagul λ), în timp ce mutantele *r*II se dezvoltă doar pe sușa B. S-a observat însă că în cazul infectării simultane a sușei K12 (λ) cu două mutante diferite *r*II, se formează plaje produse de recombinanții de tip sălbatic rezultați din recombinarea genetică a celor două mutante. Apariția tipului sălbatic poate fi detectată și la o frecvență a recombinării de 1/1 000 000.

În locii *r*IIA și *r*IIB au fost evidențiate peste 2 000 de mutante. Acestea au fost utilizate pentru relevarea fenomenului de recombinare intragenică. Pentru inducerea recombinării, sușa B de *E. coli* a fost infectată în același timp cu două mutante *r*IIA (sau *r*IIB). Apoi, pentru relevarea recombinanților fagici de tip sălbatic, din mediul de cultură reprezentat de sușa B, bacteriofagii descendenți au fost trecuți pe sușa K12 (λ). Studiul a relevat existența unor particule bacteriofagice normale care au rezultat în urma recombinării intragenice. Pe baza frecvenței recombinărilor intragenice s-a alcătuit harta genetică a regiunii *r*II, care implică aproximativ 1 500 poziții mutaționale aranjate linear (și între care are loc crossing over intragenic).

Studiul regiunii *r*II a cromozomului bacteriofagului T4 a evidențiat faptul că numărul pozițiilor pe harta genei în care se produc mutații, se apropie de numărul de perechi de nucleotizi din molecula de ADN corespunzătoare genelor *r*IIA și *r*IIB. De asemenea, acest studiu precum și alte studii similare au dus la concluzia că toate genele conțin un număr foarte mare

de poziţii în care se pot produce mutaţii şi că aceste poziţii mutabile sînt aranjate într-o ordine strict liniară. Pe baza acestei concluzii gena este definită ca *o regiune cromozomală discretă, care are în sarcina ei un produs celular specific şi constă dintr-o colecţie liniară de unităţi potenţial mutabile (loci mutabili), din care fiecare poate exista în mai multe forme alternative şi între care se poate realiza fenomenul de crossing over.* (*J. D. Watson*, 1974).

HĂRŢI CROMOZOMALE

Harta cromozomală constă în reprezentarea grafică (în formă liniară) a unui grup linkage sau cromozom în care poziţia genelor sau a markerilor genetici este indicată în funcţie de distanţele relative dintre ele. În cazul în care distanţa dintre doi loci oarecare este dată prin frecvenţa crossing overului intergenic (în unităţi de hartă) se obţine o *hartă genetică*. În cazul în care genele sînt localizate pe baza observaţiilor microscopice şi a analizei recombinărilor şi asocierea acestora cu structura cromozomului se obţine o *hartă citologică*.

Hărţile complete, în care sînt reprezentate structurile cromozomale, locii genelor cu caracteristicile controlate şi distanţele între gene proporţional cu suma recombinărilor, se numesc *hărţi citogenetice*.

Alcătuirea hărţilor cromozomale, pe baza fenomenelor de linkage, de crossing over, de aranjare liniară a genelor în cromozomi, a fost propusă de *C. B. Bridges* (unul dintre colaboratorii lui *Morgan*), în jurul anului 1920.

În hartă se înscriu alelele mutante (recesive şi dominante). Fiecare locus este indicat de simbolul abreviat al alelei mutante, precum şi de o cifră, care este obţinută prin însumarea valorilor crossing overelor pentru toate intervalele cunoscute situate în stînga faţă de poziţia dată (poziţionarea locilor începe din extrema stîngă sau partea terminală — opusă centromerului — a braţu-

lui lung spre centromer sau spre dreapta și se continuă cu partea proximală — adiacentă centromerului — a brațului scurt, încheindu-se în partea distală sau extrema dreaptă a cromozomului).

Rezultate remarcabile în alcătuirea hărților genetice s-au obținut în primul rînd la Drosophila și porumb, care reprezintă obiecte de cercetare foarte adecvate acestui scop. Au mai fost înregistrate succese în stabilirea grupelor linkage și alcătuirea hărților genetice la tomate, grîu, orez, mazăre, orz, gura leului etc.) la unii virusi, unele bacterii și ciuperci și limitat la om ș.a.

În general, hărțile genetice se alcătuiesc mai ușor la organisme cu un număr mic de grupe linkage (un singur grup linkage la viruși, bacterii ș.a., 4 grupuri linkage la Drosophila, 7 la mazăre, 10 la porumb etc.) și mai greu la organismele cu mai mulți cromozomi (20 grupe linkage la șoareci, 21 la grîul comun, 23 la om, 30 la bovine, 39 la cîini și găini etc.) la care șansele segregării independente sînt mai mari.

Drosophila melanogaster, are patru grupe linkage dintre care trei sînt mari (I, II, III), iar una (IV) este foarte mică.

Măsurată în procente de frecvență a crossing overelor (simple și duble) între gene, lungimea relativă a celor patru grupe linkage la Drosophila este de:

66,0 unități pentru cromozomul I(X);
107,3 unități pentru cromozomul II;
106,2 unități pentru cromozomul III;
0,2 unități pentru cromozomul IV.

Cromozomul Y posedă unul sau doi loci care determină fertilitatea masculilor. Acești loci nu recombină (fig. 35).

La porumb, *Zea mays*, există 10 grupe linkage ($2n=20$; $n=10$ cromozomi). În aceste grupe linkage au fost localizate diverse mutante, stabilindu-se și distanța dintre ele. Lungimea grupelor linkage, exprimată în unități de hartă este foarte variabilă și anume: cromozomul 1—172 unități, cromozomul 2—124, cro-

X

- 0,0 — *y* corp galben
- 0,0 — *sc* perișori țepoși
- 1,5 — *w* ochi albi
- 3,0 — *fa* ochi în fațete
- 3, — *No* Ochi Notch (crestat)
- 5,5 — *ec* ochi echinus (arici)
- 7,5 — *rb* ochi rubinii
- 13,7 — *cv* aripi cu nervuri puțin încrucișate
- 20,0 — *ct* aripi retezate
- 21,0 — *sn* perișori pîrliți
- 27,7 — *lz* ochi lozenge (rombici)
- 33,0 — *v* ochi vermilion (roșiatici)
- 36,1 — *m* aripi miniaturale
- 43,0 — *s* corp sable (negru)
- 44,0 — *g* ochi garnet
- 56,7 — *f* perișori bifurcați
- 57,0 — *B* Ochi Bar (barați)
- 59,5 — *fu* nervuri fuzionate
- 62,5 — *car* ochi carnation (roșii)
- 66,0 — *bb* peri bobbed (măciucați)

II

- 0,0 — *net* nervuri în rețea
- 0,0 — *al* antene nepăroase
- 1,3 — *S* Ochi în Stea
- 4,0 — *hl* aripi depărtate
- 13,0 — *dp* aripi scurte
- 16,5 — *cl* ochi bulbucați
- 31. — *da* corp dachs
- 48,5 — *b* corp negru
- 51,0 — *rd* perișori reduși
- 54,5 — *pr* ochi purpurii
- 54,8 — *Bl* Perișori Scurți
- 55,0 — *lt* ochi clari
- 57,5 — *cn* ochi cinnabar (cinabru)
- 67,0 — *vg* aripi vestigiale
- 72,0 — *L* Ochi Lobați
- 75,5 — *c* aripi curbate
- 100,5 — *px* nervuri plex
- 104,5 — *bw* ochi bruni (cafenii)
- 107,0 — *sp* corp împestrițat

III

- 0,0 — *ru* ochi rugoși
- 0,2 — *ve* nervuri îngroșate
- 19,2 — *jv* perișori lanceolați
- 26,0 — *se* ochi sepia
- 26,5 — *h* corp păros
- 41,0 — *D* Perișori Dichaete
- 43,2 — *th* ariste subțiri (filiforme)
- 44,0 — *st* ochi scarlet (stacojiu)
- 48,0 — *p* ochi roz
- 50,0 — *cu* aripi ondulate-buclate
- 58,2 — *Sb* Perișori Stubble (tunși ca peria)
- 58,5 — *ss* perișori moi
- 62,0 — *sr* corp vărgat
- 63,0 — *gl* ochi sticloși
- 66,2 — *Dl* Nervuri Delta
- 69,5 — *H* Peri Nuzi (fără perișori)
- 70,7 — *e* corp ebony (abanos)
- 74,7 — *cd* ochi cardinal (roșu aprins)
- 91,1 — *ro* ochi aspri
- 100,7 — *ca* ochi claret (roșii)
- 106,2 — *M* Perișori Minute

IV

- 0,0 — *bw* aripi aplecate
- 0,0 — *ci* nervuri cubitus
- 0,0 — *scn* peri scurți (rași)
- 0,0 — *gv* scutelum nescobit
- 0,0 — *ey* fără ochi

Y

- fertilitate masculă
- Perișori lungi
- Zbîrliți
- fertilitate masculă

II III IV X Y

Fig. 35. Hărțile genetice la *D. melanogaster*. Este dată poziția principalilor loci (indicați prin simbolurile mutațiilor recesive — litere mici sau mutațiilor dominante — litere mari), procentul de recombinare între diverși loci, lungimea grupelor linkage (cromozomii X, Y și II, III, IV; în stînga jos este dat cariotipul).

mozomul 3—129, și apoi succesiv 118, 72, 64, 109, 28, 106, iar cromozomul 10—103 unități de hartă.

Hărțile au o importanță esențială în cunoașterea organizării materialului genetic și în înțelegerea mecanismelor genetice. Pe baza acestor cunoștințe este posibil de a se prevedea rezultatele hibridărilor experimentale care afectează gene cu relații cunoscute de linkage și să se ridice eficiența activității de creare a unor noi soiuri de plante și a unor noi rase de animale.

TIPURI DE GENE DUPĂ MODUL DE REALIZARE A INFORMAȚIEI EREDITARE

Genele care produc efecte fenotipice marcante sînt *gene majore*, *oligogene* sau *gene mendeliene*. Ele controlează *caracteristici calitative* (neinfluențate de condițiile de mediu) și segregă discontinuu sau mendelian în clase distincte.

INTRACȚIUNEA GENICĂ SAU INTERACȚIUNEA DINTRE ALELELE UNUI LOCUS

FENOMENUL DE ALELISM MULTIPLU. Termenul de *alelă* indică formele alternative (contrastante, alelomorfe) ale unei gene. Alelele ocupă aceeași poziție — *locus*, în cromozomii homologi. Ele se unesc prin fecundare și se separă în timpul meiozei. Aceasta face ca în condiții normale fiecare gamet (haploid — n) să conțină numai o alelă din fiecare pereche, iar o celulă normală diploidă ($2n$) doar două alele la un locus.

Alelele apar prin mutație genică. În urma mutației din alela originară de tip sălbatic rezultă alele mutante care la rîndul lor pot suferi fenomenul de mutație. O serie de trei sau mai multe forme alternative ale unei gene care ocupă același locus în cromozomii homologi a căpătat denumirea de *alele multiple*. Într-o *serie de alele multiple*, gena sau alela de tip sălbatic care obișnuit

este dominantă se simbolizează cu +, iar alelele mutante care obișnuit sînt recesive față de alela originară, se simbolizează cu o literă sau un indice la simbolul de bază ex.: a, a^2, a^3 etc.

În cadrul seriilor de alele relația dominanță — recesivitate este variabilă. Obișnuit, alela de tip sălbatic manifestă *dominanță* față de toate alelele mutante ale seriei care sînt *recesive*. În acest caz, genotipul homozigot a^+a^+ (sau AA) determină același fenotip ca și genotipurile heterozigote a^+a (sau Aa), a^+a^2, a^+a^3 etc. În alte serii, sau între alelele mutante heterozigote ale unei serii, alături de relația *dominant-recesiv* (relație intragenică tipic mendeliană sau ereditate de tip *Pisum*), între alelele heterozigote se poate manifesta și fenomenul de *dominanță incompletă* sau *ereditate de tip Zea*, precum și fenomenul de *codominanță* sau *dominanță în mozaic*.

Serii de alele multiple. Fenomenul de alelism multiplu a fost descoperit la *Drosophila melanogaster*. Astfel, *Morgan* și colaboratorii săi, după anul 1910, au arătat că la locusul care afectează culoarea ochilor la Drosophila se află un mare număr de alele (inițial au fost cercetate 14). Acestea determină o culoare a ochilor de la roșu la alb. Culoarea normală, roșie a ochilor la Drosophila de tip sălbatic este determinată de alela w^+ sau W, iar culoarea albă de alela recesivă w. Prin încrucișări s-a ajuns la concluzia că alela recesivă w este localizată în cromozomul sexului — X. Alte experiențe au demonstrat că și o altă genă, cea pentru ochi de culoare *eosin* (w^e) este legată tot de sex. Descoperirea primului caz de alelism multiplu a fost posibilă tocmai datorită încrucișării unor musculițe ce posedau aceste culori. Astfel la încrucișarea indivizilor cu *ochi albi* (♀)×cu cei cu *ochi eosin* (♂), în F_1 toți indivizii de sex mascul aveau ochi de culoare albă, deoarece unul din cei doi cromozomi ai sexului și anume cromozomul X provenea de la forma maternă, în timp ce ochii descendentelor femele aveau o culoare intermediară între alb și eosin, deoarece femelele erau heterozigote pentru culoarea ochilor primind un cromozom X de la mamă cu w și unul de la tată cu w^e.

Pe baza analizei acestor rezultate, precum și a descendenților încrucișărilor dintre forme cu ochi de alte culori, s-a stabilit că genele ce afectează culoarea ochilor sînt alele ale genei normale (w^+ sau W) sau de tip sălbatic care produce culoare roșie. W este dominantă față de celelalte alele din *seria w*.

La formarea culorii ochilor la *Drosophila melanogaster* se consideră că participă nu numai alelele locusului W, ci și numeroase alte gene, în total peste 90. Aceste gene schimbă culoarea de tip sălbatic a ochilor de la roșu la ciocolatiu sau galben.

Cercetările efectuate la *Drosophila* au reliefat existența unor serii de alele la numeroși alți loci, care controlează diverse caracteristici (forma aripii, culoarea corpului etc.).

La mamiferele rozătoare s-a descoperit, printre altele, existența unei serii de alele multiple care afectează culoarea blănii. De exemplu, la iepure, la rasa cu blană albă — *albinotică* ($c^a c^a$) lipsesc pigmenții de culoare, în timp ce la rasa de *himalaia* ($c^h c^h$) blana este tot de culoare albă dar extremitățile corpului sînt colorate (urechile, botul, labele și coada); la rasa *chinchilla* ($c^{ch} c^{ch}$) blana este de culoare gri, iar la tipul sălbatic (*agouti* *CC*) blana este cenușie. Prin încrucișarea tipului sălbatic (*CC*) cu oricare din aceste rase, în F_1 indivizii vor avea blana de tip sălbatic, iar în F_2 are loc segregarea în raportul: 3 de tip sălbatic: 1 mutant. Acest tip de segregare confirmă faptul că genele: C, c^{ch}, c^h, c^a alcătuiesc o serie de alele multiple, în care alela originară este dominantă, iar alelele mutante sînt recesive. Obișnuit, culoarea mai intensă este dominantă asupra culorii mai deschise sau asupra lipsei culorii: $C \rightarrow c^{ch} \rightarrow c^h \rightarrow c^a$. Ca urmare, la încrucișarea *chinchilla* × *himalaia* și *chinchilla* × *albino*, tipul chinchilla este dominant, în F_2 producîndu-se segregarea în raportul 3 : 1.

La om, unul dintre cele mai cunoscute cazuri de alelism multiplu este cel care afectează diferențele serologice ale sîngelui, controlate de locusul I.

Globulele roșii (eritrocitele) au proprietatea specială (*antigenă*) de a reacționa la cîțiva componenți specifici (*anticorpi*), care se găsesc în plasma sîngelui. Antigenii

(A și B) sînt alcătuiți din substanțe proteice care la introducerea în circuitul sangvin al altui individ sînt capabili să stimuleze producția anticorpilor specifici (a și b). Pe baza relației antigen-anticorp oamenii se împart în patru grupe sangvine O, A, B și AB (fig. 36).

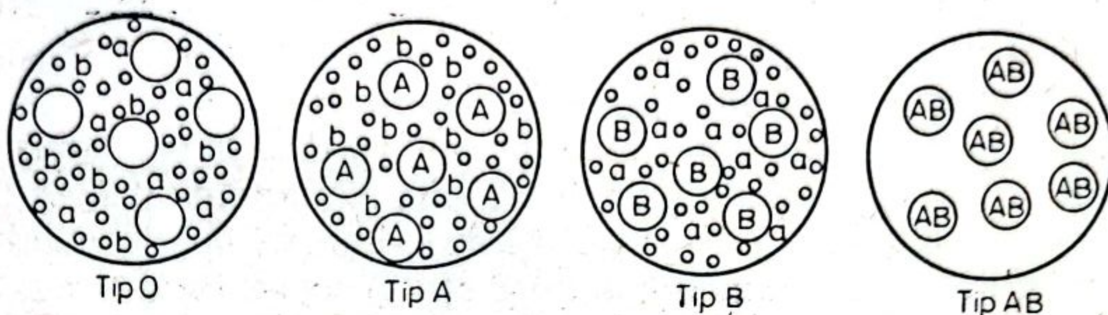


Fig. 36. Constituția antigenică și anticorpică a tipurilor de sînge uman din sistemul ABO. Literele mari indică antigenii din eritrocite, iar literele mici indică anticorpii din plasma sangvină.

La transfuzii se are în vedere ca sîngele donat să nu fie aglutinat de către anticorpii din plasma organismului receptor. Astfel, persoanele din grupa O sînt donatori universali; persoanele AB sînt primitori universali. Persoanele A primesc sînge de la A și O, B de la B și O, iar O numai de la O.

Cercetările au arătat că proprietățile sîngelui sînt determinate de către o serie de trei alele multiple notate I^A, I^B și i (sau I^0). I^A este gena pentru producția antigenului sau aglutinogenului A; I^B pentru antigenul B și I^0 pentru lipsa antigenilor. Grupa A constă din cel puțin două subgrupe mai importante: A_1 și A_2.

Combinațiile posibile ale alelelor la locusul I determină tipurile de sînge și anume:

Grupa de sînge (fenotipul)	Genotipuri
O	$I^0 I^0$
A_1	$I^{A_1} I^{A_1}$, $I^{A_1} I^{A_2}$, $I^{A_1} I^0$
A_2	$I^{A_2} I^{A_2}$, $I^{A_2} I^0$
B	$I^B I^B$, $I^B I^0$
A_1B	$I^{A_1} I^B$
A_2B	$I^{A_2} I^B$.

I^A ca și I^B sînt dominante atît în doză dublă cît și simplă. Persoanele cu ambele alele, posedă ambii antigeni și sînt de tip AB. În acest caz se manifestă fenomenul de *codominanță*, fiecare alelă acționînd independent, nefiind oprimată de prezența celeilalte.

Alela I^0 este recesivă în stare heterozigotă față de I^A și I^B.

Grupele sangvine sînt strict ereditare, ca urmare ele sînt utilizate în determinarea paternității unor copii. De pildă, un copil cu grupa sangvină A nu poate proveni de la o mamă și de la un tată cu grupa O, iar un copil cu grupa O a cărui mamă are grupa A nu poate avea un tată cu grupa AB etc.

La plante au fost studiate numeroase serii de alele. Dintre acestea seria de alele la locusul *V* la trifoiul alb *(Trifolium repens)* a fost mai intens studiată. Studiile întreprinse au arătat că manifestarea culorii frunzei la trifoiul alb este afectată de 11 alele. Alela care determină dezvoltarea și moștenirea normală a clorofilei în întreaga frunză este recesivă (*v*), iar diversele alele mutante *V* care produc pete albe în forme și intensități diferite sînt dominante față de alela originară *v*.

La încrucișarea între ele a diverselor genotipuri homozigote, se obțin diferite moduri de manifestare a culorii albe a frunzei la *Tr. repens*, unele determinate de starea de dominanță și recesivitate, iar altele de efectele ambelor alele implicate. Se consideră că în aceste cazuri se manifestă fenomenul de „codominanță" sau „dominanță în mozaic".

EREDITATE DE „TIP ZEA" *SAU DOMINANȚĂ INCOMPLETĂ*. S-a precizat că genele majore manifestă fenomenul de dominanță completă (la ereditatea de tip *Pisum*), iar organismele homozigote (*AA*) dezvoltă un fenotip identic cu cel ce se dezvoltă și de organismele heterozigote (*Aa*).

În unele cazuri, organismele în stare heterozigotă prezintă un fenotip intermediar care se deosebește de cel al organismelor parentale ce conțin alelele respective în stare homozigotă (*AA* sau *aa*). Aceste mod de acțiune

interalelică indică fenomenul de ereditate de *tip Zea* sau de *dominanță incompletă.*

Fenomenul de dominanță incompletă a fost studiat de *C. Correns* (1912) ș.a., atît la plante cît și la animale. Astfel, la încrucișarea unor soiuri de gura leului *(Antirrhinum majus)*, unul cu flori roșii, altul cu flori albe, în F_1 toate plantele vor avea flori roz, iar în F_2, are loc segregarea în raportul 1:2:1 sau: 25% dintre plante vor avea flori roșii; 50% flori roz; 25% flori albe.

Plantele cu flori roz sînt heterozigote și manifestă fenomenul de ereditate intermediară sau de dominanță incompletă.

Dominanța incompletă rezultată din interacțiunea alelică a fost studiată intens la porumb de la care își trage și denumirea. De exemplu, la încrucișarea unor varietăți de porumb, una cu boabe albastre, alta cu boabe albe, în F_1 descendența va avea boabe de culoare violacee, culoare determinată de dominanța incompletă. În F_2 se produce segregarea; 1 albastru; 2 violaceu; 1 alb.

Schematic monohibridarea de *tip Zea* se prezintă astfel (simbolul comun relevă tocmai lipsa de dominanță, iar indicele relevă prima literă a caracteristicii).

Genitori	fenotip		flori roșii ×		flori albe
	genotip		I^rI^r		I^aI^a
Gameți			I^r		I^a
Monohibrid F_1	genotip		I^rI^a		
	fenotip		Flori roz		
Gameți produși F_1		I^r	I^a♀	I^r	I^a♂
Descendența F_2	genotip	I^rI^r	I^rI^a	I^aI^r	I^aI^a
	fenotip	1/4 Roșu	2/4 Roz		1/4 Alb

Rezultă că în cazul monohibridării de *tip Zea*, generația F_1 este tot uniformă dar nu datorită dominanței complete ci *dominanței incomplete*. În F_2 are loc de asemenea segregarea fenotipică, dar nu în două fenotipuri în raportul 3 : 1, ci în trei fenotipuri în raportul 1 : 2 : 1, care este identic cu raportul de segregare genotipică: 1/4 I^rI^r: 2/4 I^rI^a: 1/4 I^aI^a.

GENE CU EFECTE LETALE. S-a constatat că o proporție însemnată dintre alelele mutante (circa 19% din totalul mutațiilor) pot determina moartea individului în care se găsesc. Efectul letal al unor gene mutante a fost evidențiat de *L. Cuénot* (1911) pe baza cercetărilor sale la șoareci. Astfel, el a constatat că prin încrucișarea unor șoareci cu blana de culoare galbenă nu se obțin numai șoareci cu blana de culoare galbenă ci o descendență heterogenă și anume: indivizi de culoare galbenă și de altă culoare, în raport de 2:1. Acest rezultat l-a determinat să considere că indivizii cu blana de culoare galbenă sînt heterozigoți posedînd o alelă pentru culoarea normală a blănii simbolizată *a* și o alelă mutantă dominantă A^y care determină atît culoarea galbenă cît și letalitatea în stare homozigotă (deci este o alelă cu *efecte pleiotrope* sau care controlează concomitent cîteva caractèristici ereditare). Ca urmare, la încrucișarea a doi indivizi cu blană galbenă: $A^ya \times \times A^y a$, în descendență sînt viabile doar două genotipuri: unul heterozigot A^ya cu blană de culoare galbenă și altul homozigot *aa*, care determină culoarea normală. Genotipul homozigot dominant A^yA^y lipsește, deoarece zigoții de acest tip mor îndată după fecundare. Se poate deduce că alela A^y este o genă mutantă letală, dar care duce la moartea organismului numai în stare homozigotă. Sacrificarea femelelor, a permis constatarea că într-adevăr 1/4 dintre embrionii produși de femelele de culoare galbenă mor în primele stadii ale embriogenezei.

Prezența alelelor letale recesive în stare homozigotă provoacă de asemenea letalitatea. Asemenea alele mutante letale recesive care se manifestă în stare homozigotă au fost detectate atît la animale cît și la plante. Astfel,

la porumb au fost studiate diverse gene recesive independente simbolizate w_1, w_2, w_3 etc., care în stare homozigotă inhibă producerea clorofilei și a fotosintezei. Plantele heterozigote *Ww* produc clorofilă fiind normale în timp ce plantele *ww* sînt albinotice, lipsite de clorofilă, și ca urmare, după epuizarea rezervelor din endosperm mor.

Gene letale recesive sînt prezente în toate organismele alogame inclusiv la om. Acestea însă nu se manifestă deoarece se găsesc în stare heterozigotă (determinată de încrucișarea permanentă dintre indivizi)

GENE PSEUDOALELELE SAU ALELE FALSE. Pseudoalelele sînt grupe de mutante care apar în diverși *subloci* din cadrul unui *locus* și care sînt separate prin crossing over intragenic. Fenomenul de pseudoalelie a fost descoperit la *Drosophila.* Astfel, din încrucișarea unor musculițe cu *ochi albi* (*ww*) cu musculițe cu *ochi apricot* ($w^a w^a$), în descendența F_2, alături de indivizi cu ochi albi și apricot, apar, cu o frecvență mică, și indivizi de tip sălbatic (w^+) cu ochi roșii. De aici s-a tras concluzia că este vorba de un locus compus din doi subloci: $\frac{w}{w}$ și $\frac{apr}{apr}$, cu o distanță între cele două subunități foarte redusă (0,01 unități de recombinare). În cazul în care cele două gene (*apr* și *w*) sînt dispuse în ambii cromozomi $\frac{w+}{+\,apr}$ *(poziție trans)*, culoarea ochilor la indivizii respectivi va fi *apricot* (gena *apr* se comportă dominant asupra genei *w*). Cînd între cele două gene are loc o recombinare genetică și ca urmare, ele ajung împreună în același cromozom: $\frac{w\;apr}{+\;+}$ (*poziție cis*), descendenții au ochi roșii deoarece genele pentru această culoare se manifestă cînd sînt situate în același cromozom.

Fenomenul de pseudoalelism demonstrează că un locus oarecare poate fi alcătuit din subloci care pot fi separați prin crossing over intragenic. Totodată acest fenomen relevă faptul că fenotipul poate reprezenta atît rezultatul direct al funcției unor alele, a genotipu-

lui, cît și rezultatul influenței poziției genelor în cromozomi, *a efectului de poziție* al genelor.

Structura fină a genei a fost cercetată detaliat în special la bacteriofagul T4 în regiunea rII de către *S. Benzer* (între 1955—1961). În lucrare, această problemă a fost prezentată la subcapitolul „Crossing over intragenic".

ABATERI DE LA RAPORTURILE MENDELIENE DETERMINATE DE INTERACȚIUNEA UNOR GENE MAJORE NEALELE

Ereditatea mendeliană are la bază principiul potrivit căruia în cadrul unui locus între alele se manifestă dominanță și recesivitate, iar diferiți loci (sau perechi de alele) sînt complet independenți unul de altul în modul de segregare și combinare, precum și de transmitere ereditară de la o generație la alta. Ca urmare, segregarea fenotipică în F_2 la monohibridare este 3:1, la dihibridare 9:3:3:1, la trihibridare 27:9:9:9:3:3:3:1 etc.

S-a constatat însă că datorită unor cauze diferite la dihibridare, trihibridare etc. pot apărea alte raporturi de segregare. Majoritatea abaterilor de la segregarea fenotipică mendeliană nu au la bază diferențe în mecanismele citologice, ci se datoresc unor interacțiuni între genele nealele.

Una dintre cauzele importante care au ca efect modificarea raporturilor mendeliene de segregare sau dezvoltarea la descendenți a unor caracteristici deosebite de ale părinților îl reprezintă fenomenul de *interacțiune a genelor nealele*. Principalele tipuri de interacțiune nealelică sînt: *epistazia*, *interacțiunea complementară* și *interacțiunea modificatoare*. Interacțiunea între două gene nealele de diferite tipuri determină alte raporturi de segregare fenotipică de exemplu: 12:3:1, 13:3, 9:3:4, 9:7 ș.a.(fig. 37).

GENE EPISTATICE ȘI HIPOSTATICE. Epistazia este un fenomen genetic larg răspîndit cuprinzînd

cîteva tipuri de interacțiune nealelică. Epistazia este fenomenul de mascare a expresiei fenotipice a unei gene sau a unor gene de către o altă genă sau gene nealele

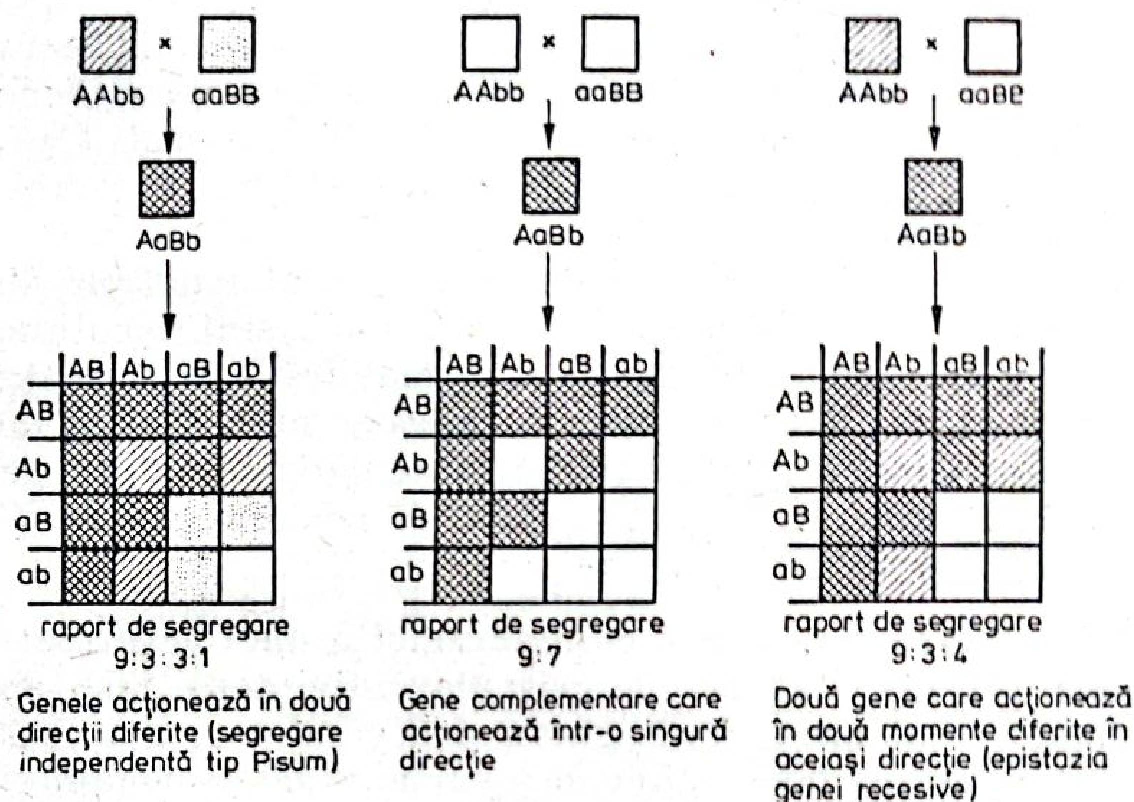


Fig. 37. Principalele moduri de acțiune a genelor la dihibridare și raportul de segregare fenotipică în F_2 (rapor-turile de segregare genotipică în toate cazurile sînt aceleași ca în cazul dihibridării de *tip Pisum*. Astfel se formează 9 genotipuri care segregă în raportul:
4 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 : 1).

situate în alți loci). Gena care împiedică manifestarea alteia se numește *epistatică*, iar gena a cărei expresie este inhibată se numește *hipostatică*. Gena epistatică poate fi dominantă sau recesivă.

Epistazia genei dominante. Acest tip de epistazie s-a observat la încrucișarea unei forme de ovăz cu *boabe negre* cu o altă formă cu *boabe albe*. În F_1 s-au obținut boabe negre. În F_2 s-au obținut boabe negre, boabe cenușii și boabe albe într-un raport de 12:3:1. Autorul acestei experiențe genetistul *Nilsson-Ehle* (1911), pentru a explica apariția plantelor cu semințe cenușii, a emis ipoteza că soiul de ovăz cu boabe negre are două

gene dominante homozigote pentru culoare, și anume *N* pentru culoarea neagră și *C* pentru culoarea cenușie, dar că gena *C* nu se manifestă în prezența genei *N*. (Soiul cu boabe albe posedă genele recesive homozigote: *n*— —pentru absența culorii negre și *c*—pentru absența culorii cenușii). Ca și în cazul dihibridării mendeliene generația F_1 *NnCc*, produce 4 categorii de gameți (*NC*, *Nc*, *nC*, *nc*). Ca urmare, în F_2 se pot obține 16 combinații de gene, din care 12/16 care au gena dominantă *N* și datorită epistaziei față de gena *C*. sînt fenotipic de culoare neagră, 3/16 cu structura *nnC*. sînt fenotipic de culoare cenușie (deoarece *C* se manifestă în prezența alelei *n*), iar 1/16 are genele recesive *nncc* și este de culoare albă. Raportul 12:3:1 este determinat deci de epistazia genei dominante *N* față de gena dominantă *C* (*C* este dominantă față de alela *c*).

Epistazia unei gene dominante și a unei gene recesive s-a detectat la încrucișarea între două rase de găini de culoare albă: Leghorn și Wyandotte. S-a constatat însă că la rasa Leghorn culoarea albă a penajului se comportă dominant la încrucișarea cu o rasă cu penaj negru, pestriț sau de altă culoare, în timp ce culoarea albă a penajului la rasa Wyandotte se comportă recesiv față de culoarea închisă a penajului. Rezultă că la cele două rase culoarea albă a penajului este controlată de mecanisme genetice diferite. (fig. 38).

Din analiza rezultatelor încrucișării rasei Leghorn cu rasa Wyandotte s-a ajuns la concluzia că ambele rase sînt genetic colorate. Astfel, rasa Leghorn cu structura *CCII* este colorată pentru că posedă gena dominantă *C* pentru culoare care însă nu se manifestă datorită prezenței genei epistatice dominante *I*. Rasa Wyandotte cu structura *ccii* este colorată datorită genei recesive *ii*, care însă este hipostatică față de gena recesivă *cc*. Deci se manifestă pe de o parte epistazia de dominanță (*I* față de *C*) și epistazia de recesivitate (*cc* față de *ii*). Înseamnă că la încrucișarea Leghorn × Wyandotte în F_1 rezultă *IiCc* (alb), iar în F_2 descendenții au în proporție de 12/16 penaj alb (*I.C.*), 3/16 penaj colorat (*iiC.*; la care lipsește gena *I*) și 1/16 tot albi (*iicc*) din

cauza prezenței în stare homozigotă a genei *cc*, care este epistatică față de *ii*. Deci raportul fenotipic alb-colorat datorită combinării efectelor epistaziei de dominanță și epistaziei de recesivitate este 13 : 3.

P Leghorn (alb) IICC × Wyandotte (alb) iicc

Gameți (IC) (ic)

Dihibrid F_1 IiCc Alb

F_2

♀ \ ♂	(IC)	(Ic)	(iC)	(ic)
(IC)	IICC Alb	IICc Alb	IiCC Alb	IiCc Alb
(Ic)	IICc Alb	IIcc Alb	IiCc Alb	Iicc Alb
(iC)	IiCC Alb	IiCc Alb	iiCC Colorat	iiCc Colorat
(ic)	IiCc Alb	Iicc Alb	iiCc Colorat	iicc Alb

Fig. 38. Încrucișarea raselor de găini Leghorn×Wyandotte cu penajul de culoare albă relevă fenomenul de epistazie a genei dominante și a genei recesive. În F_1 penajul este, în general, alb, iar în F_2 descendenții segregă fenotipic în raportul 13 alb: 3 colorați (la 12/16 dintre indivizi penajul alb este determinat de epistazia genei dominante *I* asupra genei dominante *C*, iar 1/16 de epistazia genei recesive *cc* asupra genei recesive *ii*).

Epistazia genei recesive față de o genă dominantă. Acest fenomen a fost constatat la încrucișarea unor rase de șoareci, una de *culoare neagră* (*CCaa*), cu alta de culoare albă (*ccAA*). În F_1 (*CcAa*) apare culoarea brună a blănii (tipul sălbatic sau agouti). În F_2 se obțin

9/16 indivizi cu blana de culoare brună (*C.A.*), 3/16 indivizi cu blana de culoare neagră (*C.aa*) și 4/16 indivizi albinotici (3/16 *ccA.* și 1/16 *ccaa*).

Tipul albinotic (cu structura *ccAA* sau *ccAa* este genetic de tip sălbatic, deoarece posedă gena *A*, care însă nu se manifestă din cauza prezenței genei recesive homozigote *c*. Gena recesivă homozigotă *cc* inhibă formarea oricărui pigment, deci este epistatică față de *A*, care este hipostatică. Deoarece în prezența genei recesive homozigote *c* gena dominantă *A* nu este activă, ea se mai numește și *genă criptomeră*.

GENE COMPLEMENTARE. Interacțiunea complementară a genelor reprezintă fenomenul în care două sau mai multe gene nealele, reprezentate de alelele dominante, acționează împreună în determinarea expresiei unei anumite caracteristici. Separat, nici una din genele respective nu poate produce expresia caracteristicii morfologice, fiziologice și biochimice.

Fenomenul interacțiunii complementare a fost descoperit la încrucișarea a două rase de găini, una cu *creasta în rozetă* (Wyandotte — *RRmm*) cu alta cu *creasta măzărată* (Brahma — *rrMM*; fiecare dintre aceste tipuri de creastă se comportă dominant în încrucișare cu rasa Leghorn care are *creasta simplă*). În F_1, cu structura *RrMm* indivizii rezultați din încrucișarea *rozetă* × ×*măzărată* au o creastă deosebită de ambii părinți, asemănătoare cu o *jumătate de miez de nucă* (*nuciformă*). Acest tip nou de creastă — *nuciformă*, este determinat de acțiunea complementară a celor două gene dominante *R* și *M*.

În F_2, descendenții segregă fenotipic în raportul 9/16 creastă nuciformă determinată de sistemul genetic complementar *R.M.* și 7/16 necomplementar (și anume 3/16 în rozetă *R.mm*, 3/16 măzărată-*rrM.* și 1/16 simplă —*rrmm*).

De aici concluzia că în sistemele complementare de gene transmiterea perechilor de alele se face independent, în timp ce acțiunea sau expresia nu este independentă, deoarece ambii loci interacționează prin alelele dominante în determinarea formei crestei.

Acțiunea complementară a unor gene și raportul de segregare 9 : 7 poate fi demonstrat și prin studiul culorii la plante. De exemplu, la porumb ca și la orice plantă, culoarea verde depinde de prezența clorofilei, care este determinată de acțiunea combinată complementară a alelelor normale a mai multor loci. Se consideră astfel că aproape 75 diferite gene prin alelele dominante interacționează la dezvoltarea normală a clorofilei. Absența uneia din acestea, are ca efect deficiența clorofilei.

Se cunosc și alte cazuri de acțiune complementară a genelor nealele, de exemplu, în determinarea rezistenței la unele boli. Astfel, rezistența la o boală este dată de acțiunea complementară a două sau mai multe gene dominante. De pildă, genotipul *A.B.* este rezistent, în timp ce genotipurile *A.bb*, *aaB.* și *aabb* sînt susceptibile la boli.

GENE MODIFICATOARE. Expresia fenotipică și raporturile de segregare pot fi afectate și de așa-numitele *gene cu acțiune modificatoare.* Cînd expresia genei influențate crește sau este sporită, modificatorii se numesc *gene intensificatoare*, iar cînd expresia genei influențate este redusă, modificatorii se numesc *gene reducătoare*.

Noțiunea de genă *inhibitoare* este folosită în special pentru a indica acea genă care previne expresia unei gene nealele, iar noțiunea de *genă supresoare* se referă la capacitatea unei gene de a restaura sau de a aduce aproape la nivelul normal funcția unei alele mutante inactive de la un alt locus.

Dintre genele cu efecte modificatoare a fost studiată gena *R* la *Primula sinensis*. S-a constatat că gena *R* are proprietatea de a schimba *p*H-ul citoplasmei de la 6 la 4. Schimbarea *p*H-ului are ca efect modificarea activității tuturor acelor gene din genotip, al căror *p*H optim este mai mare de 4.

Gene inhibitoare au fost descoperite la numeroase organisme. O asemenea genă a fost studiată la porumb. Ea se găsește în locusul *I* și acționează asupra producerii culorii roșii în stratul aleuronic al bobului. Cînd genotipul conține alelele dominante complementare A_1, A_2, A_3, *C* și *R* și alela recesivă homozigotă *i*, culoarea

stratului aleuronic este roșie. Dacă însă la cei cinci loci pentru culoare reprezentați de alelele dominante se adaugă alela dominantă *I*, sistemul complementar nu mai funcționează fiind inhibată producerea culorii roșii datorită inhibitorului *I*.

Genele supresoare au fost studiate mai ales la microorganisme. Astfel, la *Neurospora crassa*, alela mutantă la locusul *td* cauzează o inhibare a creșterii în absența triptofanului din mediu, deoarece se pierde capacitatea de producere a enzimei triptofan sintetazei. Creșterea miceliului și activitatea enzimatică pot fi restaurate în diverse proporții de mutațiile supresor la un alt locus, *su*. Genele supresori sau restauratori pot acționa fie direct în normalizarea acțiunii unei alele inactive, fie prin schimbarea naturii chimice și fizice a citoplasmei, ceea ce face ca alela mutantă să exprime sau să restaureze funcția nemutantă de tip sălbatic.

GENE CU EFECTE PLEIOTROPE. În concepția lui Mendel fiecare factor ereditar — genă — controlează o anumită caracteristică distinctă. S-a constatat însă că o genă poate controla sau influența simultan două sau mai multe trăsături ale organismului. Acest fenomen este cunoscut sub denumirea de *pleiotropism* (gr. *pleion* — mult; *trope* — modificare, serviciu), iar genele cu asemenea proprietăți sînt denumite *pleiotrope*. Înseamnă că în cazul pleiotropismului, schimbarea unei gene atrage după sine schimbarea în manifestarea mai multor caracteristici.

Fenomenul de pleiotropie a fost relevat în urma studierii mutantei *aripi vestigiale* la *Drosophila melanogaster*. Alela V_g produce aripi normale în timp ce mutanta v_g produce aripi vestigiale. La indivizii cu *aripi vestigiale*, alături de reducerea aripilor, se constată și influențarea altor caracteristici și anume a poziției perișorilor de pe partea dorsală, a conformației spermatecii, o reducere a fecundității etc. Deci gena *vestigial* poate fi numită atît gena perișorilor sau gena fecundității cît și gena aripei.

La tomate s-a contatat că alela mutantă recesivă l_s, care în stare homozigotă inhibă formarea mugurilor

axilari, poate în același timp să supreseze meristemul apical, să determine absența corolei, să reducă la jumătate numărul florilor din inflorescență, să producă ovare apocarpe etc.

În general se consideră că multe gene majore pot influența concomitent mai multe caracteristici, deși în puține cazuri mijloacele de investigație utilizate au relevat efecte pleiotrope.

GENELE MINORE ȘI EREDITATEA CARACTERISTICILOR CANTITATIVE

Genele minore, denumite și *gene multiple*, *gene aditive* sau *poligene*, se caracterizează prin aceea că au efecte fenotipice individuale mici, că funcționează în sisteme de două sau mai multe gene nealele echivalente (formează sistemul de *gene multiple*) și că au efecte cumulative (*aditive*).

Sistemele de gene multiple controlează așa-numitele *caracteristici cantitative* sau *metrice*, care *sînt influențate profund de condițiile de mediu*, și *segregă într-o serie continuă de clase fenotipice* (spre deosebire de *genele majore* sau *mendeliene* care controlează *caracteristici calitative* și care *nu sînt influențate de condițiile de viață* și *care segregă în clase fenotipice discontinue*).

Sînt caracteristici cantitative: înălțimea, greutatea și volumul organismelor, dimensiunea organelor, capacitatea de adaptare și de producție (de masă vegetativă, carne, lînă, lapte), prolificitatea (producția de semințe, fructe, ouă, descendenți), conținutul în anumite substanțe de rezervă etc. Cu alte cuvinte, cultura plantelor și creșterea animalelor are drept obiectiv valorificarea, în principal, a producției caracteristicilor cantitative. Se desprinde încă un fapt important și anume că pentru realizarea unor producții mari este necesar să se asigure soiurilor de plante și raselor de animale utilizate, condiții de mediu optime deoarece nivelul de dezvoltare al caracteristicilor cantitative depinde atît de calitatea genotipului cît și de calitatea condițiilor de cultură a plantelor sau de creștere a animalelor.

La locii implicaţi în sistemele de gene multiple se găsesc *două tipuri de alele*, una care produce efecte fenotipice denumită *alelă contribuitoare* (simbolizată cu majuscule, de exemplu: A_1, A_2, $A_3 \ldots A_n$), alta fără efecte fenotipice, denumită *alelă neutrală*, *pasivă* sau *inertă* (simbolizată cu minusculă, de exemplu: a_1, a_2, $a_3 \ldots a_n$).

EREDITATEA CANTITATIVĂ ŞI SISTEMELE DE GENE MULTIPLE. La descoperirea fenomenului de ereditate cantitativă şi a mecanismelor genetice ce le guvernează au contribuit cercetările genetistului suedez *H. Nilsson-Ehle* (după 1906) şi ale genetistului american *E. M. East* (între 1910—1913). Pe baza acestor cercetări, care au avut ca obiecte de studiu grîul şi porumbul, s-a reuşit să se descopere fenomenul de ereditate cantitativă şi să se explice mecanismele genetice ale comportării şi segregării caracteristicilor cantitative.

Raportul de segregare 15:1. *Nilsson-Ehle*, a încrucişat două soiuri de grîu deosebite prin culoarea bobului şi anume: *bob roşu foarte intens* × *bob alb*. În F_1 descendenţa a avut bobul *roşu intermediar*. În F_2, boabele variau în privinţa intensităţii culorii de la roşu foarte intens la alb. Analiza statistică a boabelor colorate şi a celor albe a relevat un raport de segregare de *15 roşii:1 alb*.

Clasificarea boabelor după variaţia intensităţii culorii roşii a relevat patru clase fenotipice diferite şi anume: 1/16 roşu foarte intens, 4/16 roşu intens, 6/16 roşu intermediar şi 4/16 roşu deschis, la care se adaugă 1/16 boabe albe.

Acest rezultat l-a determinat pe Nilsson-Ehle să tragă următoarele concluzii: 1 — că în producerea culorii bobului la grîu sînt implicate două gene (fiecare cu două alele); 2 — că acestea concură împreună la realizarea aceleiaşi caracteristici şi produc un efect cumulativ; 3 — că alelele acestor gene nu manifestă dominanţă şi 4 — că aceste gene segregante sînt moştenite ca şi genele mendeliene.

În consecinţă se poate explica şi variaţia culorii roşii prin analiza genotipurilor implicate. Astfel, din analiză

rezultă că 1/16 din genotipuri posedă toate cele 4 alele contribuitoare sau doze pentru roşu ($R_1R_1R_2R_2$, fenotipul roşu foarte intens), 4/16 posedă 3 alele contribuitoare ($R_1R_1R_2r_2$ sau $R_1r_1R_2R_2$, fenotipul roşu intens), 6/16 are două alele contribuitoare ($R_1r_1R_2r_2$, $R_1R_1r_2r_2$ sau $r_1r_1R_2R_2$, roşu intermediar), 4/16 posedă o alelă contribuitoare şi 3 alele neutrale ($R_1r_1r_2r_2$ sau $r_1r_1R_2r_2$, roşu deschis), iar 1/16 nu posedă nici o alelă contribuitoare şi ca urmare bobul este alb ($r_1r_1r_2r_2$). Indivizii cu alele neutrale sau inerte pentru un sistem de gene multiple posedă aşa-numitul *genotip rezidual*. Fenotipul controlat de genotipul rezidual se deosebeşte net de celelalte combinaţii.

Deci, pentru un sistem alcătuit din două gene multiple, în F_2, are loc o *segregare fenotipică generală de 15:1*, iar repartizarea în clase fenotipice continui în funcţie de structura genotipurilor (de repartizarea dozelor de alele contribuitoare şi a alelelor neutrale) este de 1:4:6:4:1.

La un sistem alcătuit din trei gene multiple raportul fenotipic general în F_2 este 63:1, iar în clase continui de segregare genotipică şi fenotipică este 1:6:15:20:15::6:1. La un sistem de gene multiple format din 4 loci raportul general de segregare în F_2 este de 255:1.

În general, în funcţie de frecvenţa alelelor contribuitoare indivizii în F_2 se distribuie binomial într-o curbă simetrică.

Măsurarea influenţei genotipului şi a mediului. În vederea relevării influenţei genotipului şi mediului în controlul unei caracteristici cantitative *E. M. East* a încrucişat două soiuri de porumb diferite în privinţa lungimii ştiuletelui, şi anume: *ştiulete lung* (în medie 16,8 cm, cu variaţia lungimii între 13–21 cm) × *ştiulete scurt* (în medie 6,6 cm, cu variaţia lungimii între 5–8 cm). În F_1 lungimea ştiuleţilor a fost intermediară (în medie 12,1 cm, variaţia lungimii între 9–15 cm). În F_2, lungimea a variat între limite largi: 7–21 cm, cu maximum de indivizi în clasele intermediare 12–14 cm. Analiza statistică a relevat clase continui de segregare, în raportul 1:4:6:4:1. Acest raport indică o caracteristică cantitativă şi un sistem cu două ge e multiple.

Plecînd de la aceste constatări, East a considerat că știuletele lung este determinat de genotipul *AABB* care este responsabil pentru lungimea medie de 16,8 cm, iar știuletele scurt de genotipul rezidual *aabb*, care asigură o lungime medie de 6,6 cm. Știuleții mai lungi sau mai scurți comparativ cu cele două medii sînt rezultatul *influenței condițiilor de creștere a plantelor* de porumb.

Relevarea contribuției alelelor active în determinarea fenotipului s-a realizat prin scăderea din valoarea lungimii medii a știuletelui lung (16,8 cm, determinat de un genotip saturat în alele contribuitoare), a valorii lungimii medii a știuletelui scurt (6,6 cm; determinat de genotipul rezidual), și împărțirea produsului la numărul alelelor aditive (4):

$$\frac{16{,}8-6{,}6}{4}=2{,}55 \text{ cm.}$$

Deci, contribuția unei alele active este de 2,55 cm. Această contribuție fiind egală și aditivă, înseamnă că în F_2, 1/16 din indivizi cu genotipul *AABB* au avut lungimea de $6{,}6+(4\times2{,}55)=16{,}8$ cm, 4/16 cu genotipul *AaBB* sau *AABb* au avut lungimea $6{,}6+(3\times2{,}55)=$ $=14{,}2$ cm, 6/16 cu genotipul *AaBb*, *AAbb* sau *aaBB* au avut lungimea de $6{,}6+(2\times2{,}55)=11{,}7$ cm, 4/16 cu genotipul *Aabb* sau *aaBb* au avut lungimea $6{,}6+(1\times2{,}55)=$ $=9{,}1$ cm și 1/16 cu genotipul *aabb* au avut lungimea de 6,6 cm.

Rezultă că în sistemele de gene multiple, alelele active au asupra fenotipului *efecte mici* care sînt, în general, *egale* și *aditive*.

La om s-a acordat atenție analizei genetice a culorii pielii, care s-a dovedit a fi caracteristică cantitativă. S-a stabilit că intensitatea culorii este dată de cantitatea de pigment melanic depozitat în piele. Cercetările efectuate au dus la concluzia că într-o serie de cazuri în controlul culorii pielii este implicat un sistem de două gene multiple (în altele de un sistem cu patru gene multiple). S-a relevat și faptul că efectul alelelor contribuitoare nu este cu necesitate egal.

S-a constatat că în urma căsătoriilor dintre negri și albi, în F_1, rezultă mulatrii caracterizați printr-o culoare intermediară a pielii și că din căsătoria mulatrilor rezultă o descendență heterogenă alcătuită din 1/16 negrii, 4/16 mulatri închis, 6/16 mulatrii, 4/16 mulatrii deschis, 1/16 alb. Pentru explicarea heterogenității descendenței, *C. B. Davenport* (1913) a presupus că în controlul culorii pielii la om este implicat un sistem format din două perechi de gene multiple și anume: P_1p_1 și P_2p_2. Potrivit acestei presupuneri, cantitatea de pigment din piele depinde de prezența alelelor contribuitoare *P*. Astfel, la negri se găsesc 4 alele contribuitoare ($P_1P_1P_2P_2$); la mulatri pot exista trei alele contribuitoare pentru pigmentare ($P_1p_1P_2P_2$ sau $P_1P_1P_2p_2$), două alele contribuitoare ($P_1p_1P_2p_2$, $P_1P_1p_2p_2$ sau $p_1p_1P_2P_2$) sau, o singură alelă contribuitoare ($P_1p_1p_2p_2$ sau $p_1p_1P_2p_2$); la albi sînt prezente alelele neutrale $p_1p_1p_2p_2$.

Alături de controlul genetic al pigmentației pielii diverselor rase umane, o contribuție însemnată asupra variabilității culorii o au influențele condițiilor de mediu precum și unele gene majore (de exemplu, alela mutantă pleiotropă care produce albinismul).

Numeroase alte caracteristici ale plantelor și animalelor sînt controlate de sisteme de gene multiple.

Din cele prezentate se desprinde faptul că în cazul cînd din încrucișarea a două forme parentale rezultă un hibrid intermediar și uniform și o descendență F_2 cu o variabilitate continuă, genele implicate au efecte egale și cumulative, formînd sistemul de gene multiple ce controlează caracteristici cantitative.

O problemă importantă este *estimarea numărului de gene multiple* implicate în diverse sisteme ce controlează caracteristicile cantitative.

Numărul perechilor de gene implicate poate fi estimat în generația F_2 prin determinarea frecvenței apariției genotipurilor extreme reprezentînd tipul parental posesor al genotipului rezidual. Astfel, dacă un individ dintr-un număr de 16 este asemănător cu unul dintre părinții originali, înseamnă că în ereditatea caracteristicii cantitative studiate sînt implicate două perechi de

gene multiple. Dacă într-o populație F_2 aproximativ 1/64 indivizi manifestă fenotipurile extreme, se presupune că sînt implicate 3 perechi de alele segregante. Cînd aproximativ 1/256 indivizi dintr-o populație F_2 manifestă unul din fenotipurile extreme, se poate considera că însușirea care a segregat este afectată de 4 loci heterozigoți.

Cînd numărul locilor heterozigoți dintr-un sistem de gene multiple este peste 5 această metodă nu mai poate fi aplicată din cauza numărului mare de indivizi care trebuie studiați pentru a găsi fenotipul extrem controlat de genotipul rezidual.

În general, estimarea numărului de gene implicate într-o anumită încrucișare este dificilă, deoarece variațiile datorate mediului precum și cele genetice sînt reprezentate de aceleași măsurători. Ca urmare se aplică o serie de procedee matematice, bazate pe presupunerea că toate genele multiple produc un efect comparabil asupra fenotipului și că între perechile de gene apare o combinare întîmplătoare.

SEGREGAREA SAU VARIAȚIA TRANSGRESIVĂ, constă în apariția în generațiile segregante, de exemplu, în F_2, a unor fenotipuri extreme sau *segreganți transgresivi*, care depășesc expresia maximală sau minimală a unei anumite caracteristici comparativ cu nivelul manifestării caracteristicii respective la părinții originali (încrucișați). Segregarea transgresivă *afectează caracteristicile cantitative și se manifestă în cazurile în care părinții diferă prin perechi de alele nesimilare homozigote*, pozitive (contribuitoare) și negative (inerte) la loci diferiți, iar aceștia (părinții) nu realizează fenotipul extrem. De exemplu, la încrucișarea $AAbb \times aaBB$, în F_1 se obține heterozigotul $AaBb$, cu un fenotip identic cu al părinților (și un genotip în care sînt prezente două alele contribuitoare), iar în F_2 apar segreganți transgresivi homozigoți pozitivi — $AABB$ (cu patru alele contribuitoare) și negativi — $aabb$ (cu genotipul rezidual), care depășesc în plus sau în minus fenotipurile paren ale.

Segreganţii transgresivi, fiind homozigoţi nu segregă şi deci au stabilitate de la o generaţie la alta, de aceea formează o sursă însemnată de material valoros pentru ameliorarea caracteristicilor cantitative ale plantelor şi animalelor.

Fenomenul de *variaţie transgresivă* poate afecta caracteristici cum sînt: capacitatea de producţie a plantelor şi animalelor, rezistenţa la temperaturi extreme, rezistenţa la boli şi dăunători, rezistenţa la cădere, mărimea şi calitatea producţiei etc., care sînt controlate de sisteme de gene multiple şi de factori de mediu.

Frecvenţa segreganţilor transgresivi este mai mare la un număr mai mic de loci care afectează o anumită caracteristică, iar părinţii diferă prin puţine perechi de gene nesimilare şi o frecvenţă din ce în ce mai mică la o creştere a numărului de gene multiple. În asemenea cazuri sînt necesare populaţii F_2 mari, pentru a putea identifica segreganţii extremi. În generaţiile următoare, posibilitatea apariţiei unor descendenţi valoroşi creşte datorită segregării şi recombinării.

Descoperirea variaţiei transgresive prezintă o mare importanţă pentru ameliorarea plantelor şi animalelor. Aceasta permite ca la încrucişarea a două forme medii în privinţa unei anumite caracteristici cantitative, să se obţină încă în F_2 o formă nouă mai valoroasă decît ambele forme originale.

Variaţia sau segregarea transgresivă ca metodă de ameliorare are o largă aplicabilitate, deoarece numeroase forme slabe, inclusiv formele sălbatice, pot avea cîteva gene care să contribuie la ameliorarea formelor cultivate apreciate ca foarte bune.

EREDITATEA EXTRANUCLEARĂ

PLASMAGENELE ŞI MODUL LOR DE ACŢIUNE

Ereditatea din afara nucleului denumită *ereditate necromozomală*, *extranucleară* sau *citoplasmică*, este deter-

minată de prezența în citoplasma celulelor a unor factori ereditari, numiți *plasmagene* (de către *H. Winkler*, 1920 și *C. D. Darlington*, 1939).

Plasmagenele controlează exclusiv numai o mică parte din fenomenele de ereditate necromozomală, deoarece multe dintre fenomenele citoplasmice, prezintă un control dublu determinat de interacțiunea plasmagenelor cu genele nucleare (*cromogene*) (*J. A. Serra*).

Comparativ cu ereditatea controlată de gene nucleare (*ereditatea mendeliană*) care se caracterizează, în principal, prin aceea că genele de la cei doi părinți, tată și mamă, contribuie în mod egal la formarea constituției genetice a urmașilor (*ereditate biparentală*), ereditatea *citoplasmică* sau *nemendeliană* se caracterizează mai ales prin *transmiterea la descendenți a trăsăturilor genetice materne* (*ereditate uniparentală-maternă*). Acest fenomen este cauzat de faptul că în marea majoritate a cazurilor *numai* gametul femel posedă atît nucleu cît și citoplasmă în care se află plasmagenele, în timp ce gametul mascul, posedă în general, doar nucleu. Plasmagenele controlează caracteristicile plastidelor, ale mitocondriilor, fertilitatea, respectiv sterilitatea polenului la plantele hermafrodite și monoice etc.

Totalitatea plasmagenelor din citoplasmă formează *plasmonul* sau *plasmatipul*, în timp ce totalitatea genelor cromozomale (cromogenele) formează *genomul* sau *cromotipul*. Plasmatipul împreună cu cromotipul formează *genotipul*.

Spre deosebire de genele cromozomale care se simbolizează cu litere din alfabetul latin, plasmagenele se simbolizează cu litere ale alfabetului grec (α, β, φ, K etc.).

Plasmagenele, ca și genele, se pot schimba prin mutație, dînd naștere la *plasmaalele* (*T. Crăciun*, 1970).

Cercetările avînd ca obiect în special organisme eucariote au relevat faptul că materialul genetic caracteristic citoplasmei reprezentat de acizi nucleici: ADN și ARN, funcționează autonom față de materialul genetic nuclear. Astfel, un ADN caracteristic citoplasmei (deosebit de cel nuclear) a fost descoperit în organitele celulare: mitocondrii (cu o masă moleculară de 8×10^6), cloroplaste ș.a. Electronomicroscopic au fost evidențiate

în aceste organite molecule de ADN, de formă circulară asemănătoare cu genoforul procariotelor (bacterii, alge albastre) dar și ribozomi, *s*ARN și enzime diverse. De aici concluzia că originea deosebită a materialului genetic din citoplasmă conferă acestuia funcții deosebite.

ADN-ul de origine citoplasmică poate fi izolat și studiat. Studiile întreprinse au stabilit că într-o plastidă conținutul de ADN ajunge la aproximativ $10^{-14}-10^{-16}$, iar într-o mitocondrie la $10^{-16}-10^{-17}$.

Prin studii comparative a fost evidențiat faptul că între ADN nuclear și ADN citoplasmic, există diverse deosebiri. Totodată au fost relevate deosebiri și între ADN din plastide și ADN din mitocondrii. Deosebirile constatate se referă la o serie de trăsături ale ADN, cum sînt: densitatea, proporția dintre perechile de baze azotate $(A+T/G-C)$, frecvența și succesiunea bazelor azotate etc. Diferențele de origine și structurale între ADN din organitele citoplasmice și ADN din nucleu inhibă formarea de hibrizi între aceste două tipuri de ADN. S-a stabilit că ADN din organitele citoplasmice, avînd o structură bicatenară helicoidală, asemenea ADN din nucleu se replică semiconservativ, dar autonom față de ADN din nucleu.

Mitocondriile și cloroplastele se aseamănă în privința a o serie de trăsături. Astfel, ele au capacitatea de creștere în lungime urmată de fisiune binară similară bacteriilor. De asemenea, ele au capacitatea să se aprovizioneze eficient cu ATP în scopul autoreproducerii și să furnizeze energie celulei în care se găsesc. Trăsăturile comune ale mitocondriilor și cloroplastelor rezultă din originea similară a acestora, din microorganisme procariote (probabil bacterii care din starea de parazite au evoluat spre simbioză permanentă cu celula — gazdă și apoi, spre stare de organite celulare).

Cloroplastele și mitocondriile multor organisme conțin *m*ARN și *s*ARN transcrise pe ADN din organitul respectiv, ribozomi proprii care se deosebesc de ribozomii din citoplasmă prin dimensiuni și constanta de sedimentare (70 S în ribozomii din organite și 80 S în ribozomii citoplasmici). Aceste diferențieri sînt deter-

minate de conținutul diferit în baze azotate a rARN și în aminoacizi a proteinelor din ribozomii 70 S de tip procariot, comparativ cu ribozomii 80 S de tip eucariot.

Faptul că atît creșterea cît și diviziunea organitelor celulare nu au putut fi realizate în afara celulelor, a dus la formularea concluziei că structura și funcțiile cloroplastelor și mitocondriilor sînt coordonate atît de nucleu cît și de ADN-ul propriu. Mai mult, unele cercetări relevă controlul de către genele nucleare a sintezei unor proteine esențiale plastidice și mitocondriale (mai ales a enzimelor). Biosinteza acestor enzime se desfășoară la nivelul ribozomilor 80 S de tip eucariot din citoplasmă, după care sînt încorporate de organite. Concomitent, alte proteine — enzime sînt codificate de ADN din organite și sînt biosintetizate de ribozomii 70 S din organite. Din cele menționate se poate considera că informația genetică din ADN nuclear controlează diviziunea și structura organitelor, în timp ce informația genetică proprie organitelor controlează mai ales funcțiile organitelor. Din această cauză mutațiile ce survin în plasmagenele organitelor schimbă funcțiile acestora. Tocmai posibilitatea mutației în ADN organital (în plasmagene) explică multe din cazurile de ereditate extracromozomală. Astfel, la plante la care cloroplastele sînt situate în citoplasma tuturor celulelor, cu excepția spermatiilor, este explicat mecanismul de transmitere a acestor organite numai pe linie maternă (prin gametul femel) (*J. D. Watson*, 1974).

Existența plasmagenelor proprii în organite permite inducerea experimentală a unor mutații plastidice și mitocondriale.

Relevarea faptului că organismele procariote sînt lipsite atît de membrane nucleare cît și de organite cum sînt mitocondriile și cloroplastele, în timp ce eucariotele sînt echipate cu asemenea organite, a contribuit atît la formularea ideii despre originea extracelulară a organitelor din celula eucariotă cît și la explicarea mecanismelor care controlează unele dintre fenomenele de ereditate extranucleară, citoplasmică, la plante și animale.

EREDITATEA EXTRACROMOZOMALĂ LA HIBRIDAREA INTERSPECIFICĂ

Hibrizii interspecifici reciproci (A♀×B♂ și B♀×A♂), se comportă, în general, net deosebit, datorită, în principal, constituienților genetici citoplasmici, ce se transmit pe linie maternă. Rezultă, că între diverse specii din cadrul aceluiași gen, alături de diferențierile genetice determinate de cromotip (de gene) există diferențieri genetice determinate de plasmatip (de plasmagene) localizate în citoplasmă.

Un exemplu concludent în acest sens îl constituie experiențele de hibridare interspecifică reciprocă efectuate de *F. von Wettstein* (1924). Acesta a utilizat în unele hibridări două specii de mușchi din familia *Funariaceae* și anume: *Funaria hygrometrica* și *F. mediterranea*, deosebite pregnant prin fenotip. Studiul descendenților rezultați din hibridarea reciprocă: *F. hy* ×*F.m*, respectiv *F.m* ×*F.hy*, a relevat faptul că hibrizii rezultați sînt asemănători într-o măsură aproape exclusivă cu genitorul matern. În alte hibridări a utilizat specii de mușchi din genul *Funaria* și din genul *Physcomitrium*. Și în aceste cazuri s-a manifestat o ereditate uniparentală în sensul că hibrizii erau asemănători speciei utilizate ca genitor matern. De aici s-a tras concluzia că plasmagenele se pot manifesta prin inhibarea acțiunii genelor.

Experiențe interesante au fost efectuate și de *P. Michaelis* (1951 și 1954) care a relevat aspecte ale interacțiunii cromotip-plasmatip. În acest scop au fost hibridate reciproc speciile *Epilobium hirsutum* ×*E. luteum*. Cînd *E. hirsutum* era formă maternă, hibridul F_1 avea ovule normale, în timp ce polenul era complet steril, iar cînd specia *E. luteum* era mamă, hibridul F_1 avea ovule și polen normale.

Apoi, hibridul *E. luteum* ×*E. hirsutum* începînd cu F_1 a fost backcrossat (retroîncrucișat) cu *E. hirsutum*, timp de 24 de generații, pînă la eliminarea completă a genomului de *E. luteum*. Forma obținută avea deci citoplasmă de tip *luteum* și nucleu de tip *hirsutum*. Totuși, forma sau linia respectivă (Lh^{24}) avea majoritatea caracteristicilor de la specia maternă *E. luteum*.

Încrucişarea reciprocă Lh^{24}(♀)×*E. hirsutum* (♂) şi *E. hirsutum* (♀)×Lh^{24}(♂) a relevat faptul că hibrizii reciproci se deosebeau între ei, moştenind ca şi la hibridarea originară reciprocă doar caracteristicile genitorului matern, fie specia *E. luteum*, fie specia *E. hirsutum*. În acest fel, s-a dovedit că la hibridarea îndepărtată, descendenţii pot moşteni unele caracteristici controlate numai de factori ereditari localizaţi extranuclear în citoplasma genitorului matern.

Ereditatea citoplasmică transmisă prin gametul femel a fost observată şi la hibridarea unor specii animale. De exemplu, hibrizii reciproci între cal, *Equus caballus* ($2n=64$) şi asin, *E. asinus* ($2n=62$) se caracterizează prin trăsături distincte pregnante. Astfel, în urma hibridării interspecifice cal♀×asin♂ rezultă catîrul (*E. mullus*, $2n=63$), iar din hibridarea măgar♀×cal♂ rezultă bardoul (*E. hinnus*, $2n=63$). După cum se ştie, aceşti hibrizi, cu toate că posedă acelaşi număr de cromozomi ($2n=63$), manifestă deosebiri pregnante, atît în privinţa fertilităţii, cît şi a culorii, mărimii, puterii de muncă etc.

Se poate trage concluzia că fiecare specie, pe lîngă o combinaţie proprie de gene nucleare — cromotip, are şi o combinaţie genetică extracromozomală caracteristică — plasmatipul care contribuie la alcătuirea genotipului specific, determinînd ansamblul de trăsături care deosebeşte o specie de alta.

EREDITATEA EXTRACROMOZOMALĂ LA MICROORGANISME

Aşa cum a fost precizat *mitocondriile* sînt organite caracteristice celulei eucariote fiind prezente atît la plante cît şi la animale. Aceste organite constituie sediul fosforilărilor oxidative şi se înmulţesc prin creştere şi diviziune replicativă, care le asigură continuitatea genetică.

În scopul cercetării la microorganisme a funcţiilor genetice au fost detectate şi stabilite raporturile exis-

tente între anumite caracteristici fenotipice ale organismului și diverși determinanți ereditari localizați extranuclear (de exemplu în mitocondrii) sau în nucleu. Pe baza unor asemenea cercetări, s-a stabilit, de exemplu, că sușele cu deficiență respiratorie la drojdia de bere (*Saccharomyces cerevisiae*) precum și sușele *poky* la *Neurospora crassa*, reprezintă mutante asociate cu mitocondrii.

La *S. cerevisiae* ereditatea citoplasmică a fost studiată de *B. Ephrussi* și colaboratorii (1955). La această specie, tipul sălbatic sau normal, în mediu de cultură, formează colonii mari. Alături de acestea au fost găsite și unele colonii mici, produse de o mutantă cu deficiențe respiratorii numită *petite*. Fenotipic, clonii ce produc colonii *petite* se deosebesc de tipul normal în condiții aerobe, cînd datorită incapacității lor de a folosi oxigenul atmosferic au o creștere și înmulțire redusă comparativ cu tipul normal. În mediu anaerob, atît tipul sălbatic cît și mutantele *petite* au o creștere lentă producînd colonii mici. Anomaliile respiratorii ale clonilor mutanți *petite* se datoresc faptului că celulele au pierdut sistemul lor respirator aerob, respectiv principalele enzime respiratorii și anume: citocrom oxidaza, citocrom reductaza și citocromul *a* și *b*. Toate aceste enzime, în celulele normale sînt purtate de mitocondrii. Rezultă că mutația afectează determinanții genetici mitocondriali, modificînd manifestarea funcțiilor respiratorii și de creștere a celulelor în care a avut loc asemenea mutații.

Studiul sușelor care manifestau un fenotip *petite* a permis detectarea a două principale categorii de mutante cu deficiențe respiratorii. Una dintre aceste categorii de mutanți, așa-numiții „petite vegetativ" (*v*) sînt extracromozomali, în timp ce a doua categorie de mutanți, așa-numiții „petite segregațional" (*s*), sînt cromozomali. Acești mutanți care afectează procesele respiratorii (fiind respirator deficient) se deosebesc prin mecanismele de transmitere: mutanții extracromozomali (*v*) se transmit numai uniparental pe linie maternă, în timp ce mutanții cromozomali (*s*) se pot transmite și biparental fiind afectați de segregare.

Mutanta *poky* la *Neurospora crassa* este tot de origine citoplasmică. *M. B. Mitchell* și colaboratorii (1952) au studiat cîteva caracteristici ale creșterii și ale sistemului respirator care manifestau o ereditate exclusiv maternă la *Neurospora*. Mutanta *poky* se caracterizează printr-o creștere mai redusă a miceliului comparativ cu tipul normal. Faptul că fenotipul *poky* este de natură citoplasmică este relevat de încrucișările *poky*×*normal* în urma cărora se obține o descendență în întregime cu fenotip femel sau *poky*.

Faptul că rata de creștere la sușa *poky* este corelată cu unele deficiențe enzimatice respiratorii a condus la formularea concluziei că mutația a afectat plasmagene localizate în mitocondrii.

Înmulțirea *N. crassa* are loc pe cale asexuată și sexuată. Neurospora este o ciupercă ascomicetă heterotalică, care formează două tipuri de spori asexuați: *protoperitecii* (fructificații cu rol de părinte matern) și *conidii* (cu rol de părinte patern). Fecundarea se realizează numai între protoperitecii (*A* sau +) și conidii (*a* sau —), precum și invers. Sporii asexuați femeli sînt bogați în citoplasmă, iar cei masculi sînt lipsiți de citoplasmă. Or, tocmai prin intermediul citoplasmei pe linie maternă (uniparental) se transmit mitocondriile normale sau mutante.

TRANSMITEREA EREDITĂȚII PRIN PLASTIDOM

Cloroplastele, plastide ce conțin clorofilă, sînt organite celulare, responsabile pentru fenomenul fotosintezei. Ele se dezvoltă în citoplasmă, prin diviziune, din proplastide. S-a constatat că aceste organite sînt afectate cu o frecvență destul de mare de mutație. Efectele mutației plastidice se pot detecta adesea fenotipic prin apariția de sectoare sau pete albe sau galbene pe frunzele și ramurile plantelor.

Obișnuit, tipurile de albinism sau de împestrițare determinate de mutația plastidică au fost grupate în funcție de mecanismele de transmitere, în două: *status albomaculatus* și *status paraalbomaculatus*.

STATUS ALBOMACULATUS este caracterizat prin plante cu „frunze pestrițe" cu sectoare verzi și albe sau galbene. În sectoarele verzi sînt plastide normale, iar în sectoarele albe sau galbene plastidele sînt mutante, anormale, care au pierdut clorofila. Primele studii asupra sistemelor fotosintetice a diferitelor plante au fost efectuate încă în 1909 de *C. Correns* și *E. Baur*. De exemplu, *Correns* a studiat anomaliile plastidice la *Mirabilis jalapa*. În acest scop a polenizat florile situate pe ramuri cu frunze verzi, pestrițe și galben-deschis, cu polen provenit la rîndul lui de pe ramuri cu frunze verzi, pestrițe și galben-deschis. Analiza descendenței a relevat faptul că indiferent de proveniența polenului descendența moștenește tipul de plastide caracteristic ramurii pe care se găsea floarea maternă. Astfel, din semințele formate în flori situate pe ramuri cu frunze verzi rezultă plante verzi, în timp ce din semințele formate în flori situate pe ramuri cu frunze albe, rezultă exclusiv plante albe. Semințele formate în florile de pe ramuri cu frunze în care plastidele sînt amestecate: normale și mutante, dau o descendență mozaicată. Rezultă că *status albomaculatus* se caracterizează prin transmiterea exclusiv maternă a caracteristicii „frunze pestrițe". Acest mecanism de moștenire a plastidelor a fost descris la genurile *Mirabilis*, *Antirrhinum*, *Primula*, *Zea* etc.

Transmiterea împestrițării frunzelor pe linie maternă, prin citoplasma ovulelor sau *status albomaculatus*, nu implică nici un element constitutiv al gametului mascul și nici un element nuclear al ovulului. Gametul mascul nu influențează pentru că nu are sau are o foarte mică cantitate de citoplasmă.

STATUS PARAALBOMACULATUS este un tip de ereditate citoplasmică, biparentală, în care sînt implicate plastide atît de origine maternă, cît și paternă.

Acest tip de ereditate citoplasmică a fost descoperit la *Pelargonium zonale* (detectat de Baur, în 1909), *Oenothera*, *Epilobium*, *Fragaria* etc.

La *Pelargonium* au fost studiaţi hibrizii reciproci dintre o formă cu frunze albe sau cu marginea albă cu o formă cu frunze verzi (cu plastide normale). Studiul hibrizilor direcţi (frunze albe ♀ × frunze verzi ♂) a relevat faptul că generaţia F_1 este în parte verde, în parte albă şi în parte frunze împestriţate (circa 30% din indivizi au atît plastide normale cît şi anormale). La hibridarea indirectă (frunze verzi ♀ × frunze albe ♂) descendenţa F_1 era constituită în proporţie de 30% din plante verzi şi din 70% indivizi cu frunze pestriţe care au plastide anormale (mutante) aduse de polen (unii indivizi posedă numai plastide cu fenotip patern).

Aceste rezultate sînt explicate de segregarea somatică a plastidelor din celulele cu plastide mixte normale şi mutante, şi de transmiterea plastidelor atît prin citoplasma gametului femel cît şi prin citoplasma gametului mascul.

EREDITATE CITOPLASMICĂ DE TIP SIMBIOTIC

FACTORI EREDITARI LOCALIZAŢI ÎN PARTICULE INFECŢIOASE. În citoplasma unor organisme există în stare simbiotică particule similare viruşilor care transmit anumite caracteristici proprii prin citoplasma celulei-gazdă. Are loc astfel o transmitere tipic maternă caracteristică eredităţii extranucleare, cu deosebirea că factorii care o determină nu sînt *plasmagene* proprii, ci *gene* străine care aparţin cromozomului unor particule infecţioase simbiotice.

Dintre cazurile de ereditate extracromozomală de tip simbiotic care au fost mai bine studiate sînt cele produse de aşa-numitul *factor sigma* care condiţionează senzitivitatea la CO_2 a unor indivizi de *Drosophila melanogaster* şi de particulele *kappa* (k), *lambda* (λ) şi

miu (μ) din citoplasma unor rase de *Paramecium aurelia*, care determină secreția unei substanțe nocive pentru alte rase.

Factorul sigma. Variația senzitivității unor indivizi de *D. melanogaster* la CO_2 a fost descoperită și studiată de *P. H. L'Héritier* și *G. Teissier* (1937). CO_2, în cantitate mică, acționează ca un narcotic asupra musculițelor, iar în concentrație mare este nociv. Studiile întreprinse au relevat existența unor genotipuri deosebit de sensibile la concentrații mici de CO_2. Cercetarea acestor musculițe a permis să se stabilească faptul că senzitivitatea la CO_2 se transmite pe linie maternă.

Astfel, la încrucișările *femelă senzitivă* × *mascul rezistent*, toți descendenții F_1 erau sensibili față de CO_2. Sensibilitatea se manifestă constant chiar dacă descendențele femele se backcrossează succesiv cu masculi rezistenți. La încrucișarea *femelă rezistentă* × *mascul senzitiv*, descendența era în majoritate rezistentă la CO_2 dar existau și indivizi sensibili la CO_2. Aceasta a impus concluzia că în cazuri rare factorul citoplasmic care cauzează senzitivitatea poate să se transmită prin citoplasma spermatozoizilor. Acești factori ajung în spermatozoizi din spermatocite în timpul spermiogenezei.

Factorul sigma se consideră că este localizat în particulele unui anumit virus. Aceste particule pot fi separate din citoplasmă prin centrifugare, străbat un filtru cu pori de 300 milimicroni și sînt reținute de un filtru cu pori de 100 milimicroni. (Mărimea particulelor ar varia între 42 și 180 milimicroni — mμ.)

S-a stabilit că factorul sigma poate să fie afectat de mutații și recombinări.

Particulele infecțioase la Paramecium. La parameci au fost descoperite cîteva tipuri de particule infecțioase denumite, în ansamblu, *particule P*, cum sînt: *kappa* (K), *lambda* (λ), *miu* (μ) etc. *T. M. Sonneborn* (1959) a descoperit și studiat la specia *Paramecium aurelia* sușe (cloni) care au capacitatea de a secreta în mediul înconjurător (în apă) o substanță, *paramecina*, care ucide indivizii aparținînd altor forme (cloni)

din aceeași specie. Primele forme au fost denumite *ucigașe (killer)*, iar formele care sînt ucise au fost denumite *senzitive* (fig. 39).

Studiile au evidențiat faptul că formele rezistente sau *killer* posedă în nucleu gena dominantă *K* în stare

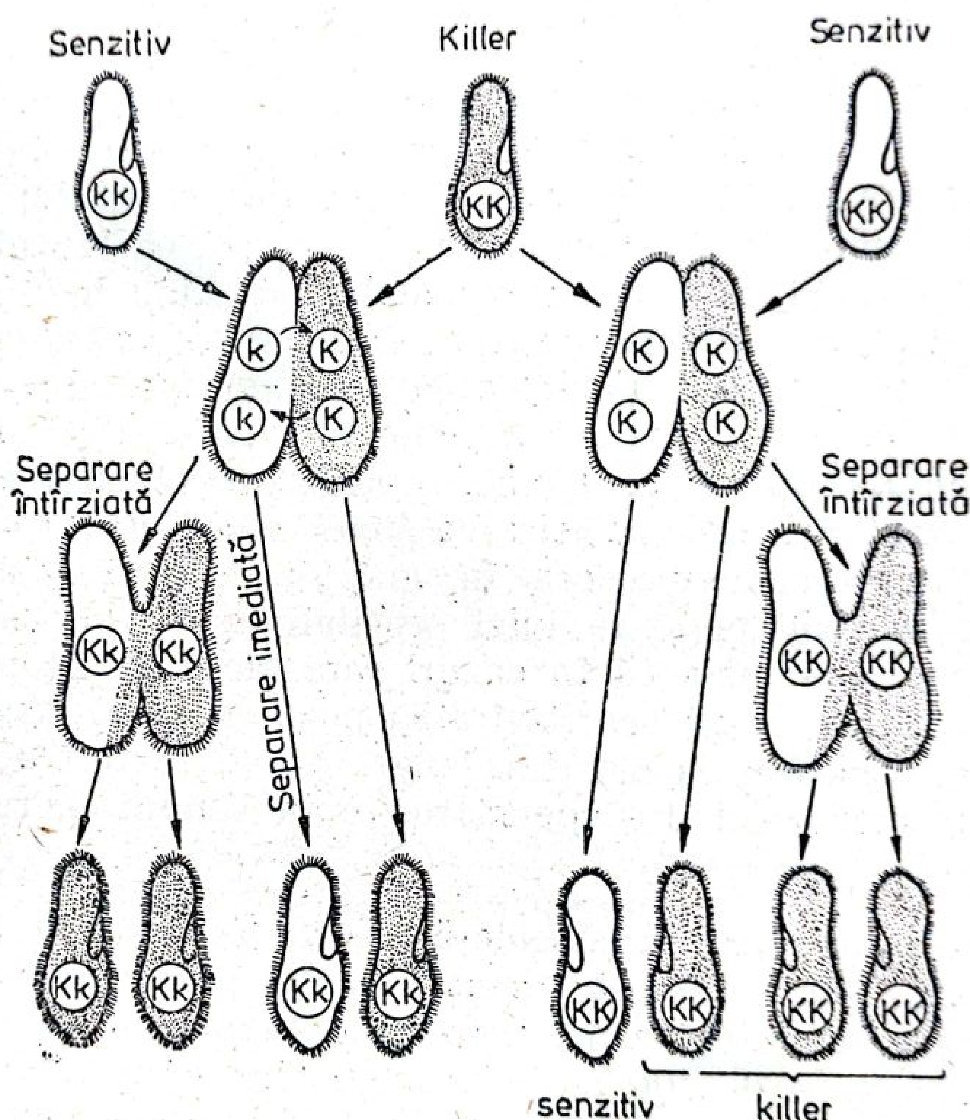


Fig. 39. Ereditatea caracteristicii „killer" la *Paramecium aurelia.* Majuscula K indică alela pentru „killer", minuscula *k* indică alela pentru „non-killer", iar punctele indică prezența factorilor „kappa" în citoplasmă (după *T. M. Sonneborn,* 1959).

homozigotă (*KK*) sau heterozigotă (*Kk*), iar în citoplasmă particule *kappa*.

Particulele kappa pot fi relevate prin colorare cu reactiv Schiff, fapt ce indică prezența ADN (dar și a ARN, proteine și alte substanțe). Mărimea particulelor *kappa* este cuprinsă între 0,2 și 0,5 μ. Numărul

particulelor kappa la tipul rezistent variază între cîteva sute și cîteva mii (cu un număr mediu de 1 600; în stare heterozigotă *Kk* numărul particulelor kappa este redus la jumătate comparativ cu starea homozigotă *KK*).

Formele senzitive conțin în nucleu alela recesivă (în stare homozigotă — *kk*), iar în citoplasmă nu conțin particule kappa (care nu supraviețuiesc decît într-o celulă în a cărui nucleu este prezentă alela dominantă *K*). Totodată s-a stabilit că particulele kappa se multiplică numai în prezența în nucleu a alelei *K* (în lipsa ei se pierd). Particulele kappa se înmulțesc prin autoreplicare.

Experimental s-a reușit ca cele două forme: rezistentă și senzitivă să se încrucișeze (conjuge). S-a stabilit că la o conjugare scurtă (cu separare normală) *killer* (*KK*+*kappa*) ×*senzitiv* (*kk*) — exconjuganții deși devin heterozigoți (*Kk*) rămîn neschimbați — killer, respectiv senzitiv, deoarece în timpul conjugării a avut loc numai un schimb de material nuclear și nu și de material citoplasmic.

În cazuri excepționale, cînd conjugarea *killer* ×*senzitiv* se prelungește (conjugare prelungită și separare întîrziată), între conjuganți are loc nu numai un schimb de material nuclear, ci și de material citoplasmic, inclusiv de particule kappa. Ca urmare, exconjugantul senzitiv fiind *Kk*, dar și cu particule kappa, ajunge la rîndul lui rezistent și producător de paramecină. Prin reproducere autogamă din acești indivizi heterozigoți vor rezulta indivizi homozigoți dominanți (*KK*) — rezistenți și homozigoți recesivi (*kk*) — senzitivi (deoarece particulele kappa dispar în lipsa alelei *K*).

Rezultă că funcția *killer* și rezistența la paramecină la *Paramecium aurelia* sînt condiționate de prezența în citoplasmă a particulelor kappa și de prezența în nucleu a alelei dominante *K*. Atît alela dominantă *K* cît și particulele *kappa* se pot transfera de la un individ la altul în timpul conjugării.

Particulele *lambda* (λ) și *miu* (μ) se pot afla de asemenea în citoplasma parameciilor, determinînd rezis-

tență și capacitate *killer*. Și în aceste cazuri prezența și înmulțirea particulelor în citoplasmă este condiționată de existența în nucleu a unor alele dominante.

Atît particulele *kappa*, cît și *lambda* și *miu* sînt considerate ca fiind particule infectante intracelulare de origine străină, dar faptul că nu îmbolnăvesc celula-gazdă, demonstrează că aceste particule sînt niște simbionți. În acest caz, simbioza este controlată de gene. Particulele, fiind constituite din ADN, pot să se schimbe prin mutație care poate afecta modul lor de activitate, rata de reproducere, mărimea, forma, capacitatea de a ucide formele senzitive etc.

Particulele extracromozomale străine nu sînt esențiale pentru metabolismul normal al celulei și, prin urmare, pierderea lor nu este letală pentru celulă.

EREDITATEA STERILITĂȚII MASCULE

Sterilitatea masculă sau *androsterilitatea* la plantele hermafrodite și monoice constă în pierderea capacității de a produce gameți masculi viabili. La aceste plante, ovulul este normal, în timp ce polenul, fie că este steril (nefuncțional), fie că nu se formează datorită lipsei microsporogenezei.

Principala sursă de sterilitate masculă sînt formele cu origine hibridă, rezultate din hibridări interspecifice, iar în unele cazuri și hibrizii intervarietali. Asemenea hibridări tulbură echilibrul normal dintre citoplasmă și nucleu și produc descendenți la care polenul poate fi nefuncțional.

Fenomenul sterilității mascule a fost observat la numeroase specii de plante: in, *Epilobium*, porumb, ceapă, sorg, sfeclă de zahăr, grîu, tutun etc.

Studiul sterilității mascule la plantele hermafrodite și monoice a relevat faptul că în producerea acestui fenomen sînt implicate cîteva mecanisme, în funcție de care androsterilitatea este: nucleară, citoplasmică și nucleo-citoplasmică.

STERILITATEA MASCULĂ NUCLEARĂ. Ereditatea acestui tip de sterilitate este controlată de o alelă mutantă recesivă, localizată în nucleu și se manifestă în stare homozigotă. Alela normală care determină fertilitatea polenului este notată *Ms*, iar alela recesivă pentru sterilitatea polenului *ms*. Datorită mutației, în locusul *Ms* pot apărea mai multe alele care pot afecta diferențiat microsporogeneza și manifestarea sterilității mascule. Astfel, la porumb, tomate, orz etc. au fost descoperite numeroase alele mutante care afectează fertilitatea masculă.

Androsterilitatea genică fiind recesivă nu se manifestă în stare heterozigotă. Ea se poate manifesta în F_2, cînd 3/4 dintre descendenți sînt mascul fertili, iar 1/4 mascul sterili homozigoți. În cazul polenizării unei forme androsterile homozigote (*msms*) cu polenul unor plante heterozigote (*Msms*) descendența testcross segregă în raportul de 1/2 *Msms* — androfertil: 1/2 *msms* — androsteril.

Androsterilitatea genică a fost descoperită de multă vreme la porumb. Pînă în prezent s-au descoperit 20 de gene recesive, localizate în cromozomii 1, 3, 5, 6, 8 și 9, care determină androsterilitatea plantelor. De exemplu, în cromozomul 6 este localizată gena recesivă ms_1, situată în imediata apropiere a locusului *y* care determină culoarea bobului (*y* — culoarea albă; *Y* — culoarea galbenă a endospermului). Aceasta a sugerat lui *D. F. Jones* și col. (1949) de a folosi androsterilitatea genică la producerea hibrizilor de porumb fără castrare. Astfel, ei au considerat că cei doi loci linkage (*ms* și *y*) pot fi utilizați concomitent, unul pentru androsterilitate-androfertilitate, iar al doilea ca genă marker pentru indicarea prezenței sau absenței fertilității polenului.

În acest scop se utilizează pentru încrucișare o formă maternă cu alelele recesive homozigote la ambii loci și anume *bob alb, sterilitate masculă* și o formă paternă heterozigotă și anume *bob galben, fertilitate masculă*, sau

$$\frac{y\,ms}{y\,ms} \times \frac{Y\,Ms}{y\,ms}:$$

Dintr-o asemenea încrucişare rezultă 1/2 boabe albe şi androsterile şi 1/2 boabe galbene şi androfertile (heterozigote). Segregarea 1 mascul steril : 1 mascul fertil este similară testcrossului, determinată de structura celor doi genitori (unul homozigot-tester, altul heterozigot dominant).

Existenţa genei marker (într-un linkage strîns cu gena sterilităţii mascule care să se manifeste fenotipic timpuriu, cu mult înainte de înflorit şi de polenizare, reprezintă tocmai condiţia utilizării androsterilităţii genice în procesul de producere a seminţelor hibride. Aceasta este impusă de necesitatea ca în cîmpurile de producere a seminţei hibride de pe rîndurile mamă să poată fi eliminate cît mai devreme plantele fertile, pentru a asigura polenizarea plantelor rămase androsterile numai cu polen de la genitorul corespunzător. Deci, în utilizarea sterilităţii mascule genice, un rol important îl are descoperirea unor gene marker linkage (localizate în acelaşi cromozom cu genele sterilităţii polenului) ale căror efecte fenotipice să se identifice uşor şi să se manifeste timpuriu, eventual la sămînţă sau în faza de plantulă, pentru a putea păstra plantele mascul sterile şi a elimina plantele mascul fertile.

Menţionăm că la floarea-soarelui pentru producerea seminţei hibride comerciale a fost folosită sterilitatea masculă genică linkage cu gena marker *T* pentru plantule antocianice (alelele *tt* produc plantule verzi, alela *ms* este linkage cu *t*, iar *Ms* cu *T*). Cele două gene linkage sînt utilizate în înmulţirea liniei consangvinizate materne. Astfel, din încrucişarea:

$\frac{mst}{mst}$ (plante homozigote mascul sterile, verzi) × $\frac{MsT}{mst}$ (plante heterozigote mascul fertile, antocianice), rezultă o descendenţă constituită din plante mascul sterile verzi şi plante mascul fertile antocianice, într-o proporţie de 50%. Aceasta permite ca de pe rîndurile mamă din cîmpul de hibridare să fie înlăturate plantele care vor produce polen încă în faza de plantulă, ele fiind antocianice pe hipocotil şi peţiol.

STERILITATEA MASCULĂ CITOPLASMICĂ. Acest tip de androsterilitate este controlat de factori ereditari citoplasmici, care se comportă potrivit eredității extranucleare. Astfel, la încrucișarea unei plante mascul sterilă citoplasmic cu o plantă mascul fertilă, în descendență toate plantele sînt mascul sterile, însușire transmisă prin citoplasma ovulului. Din acest motiv, plantele citoplasmic mascul sterile se pot reproduce, fie prin încrucișare controlată cu plante mascul fertile fie pe cale vegetativă.

Sterilitatea masculă citoplasmică (*S*) a fost cercetată la diverse specii de plante cultivate: porumb, sorg, sfeclă de zahăr, morcov, grîu, floarea-soarelui, varză etc. (fig. 40 a și b).

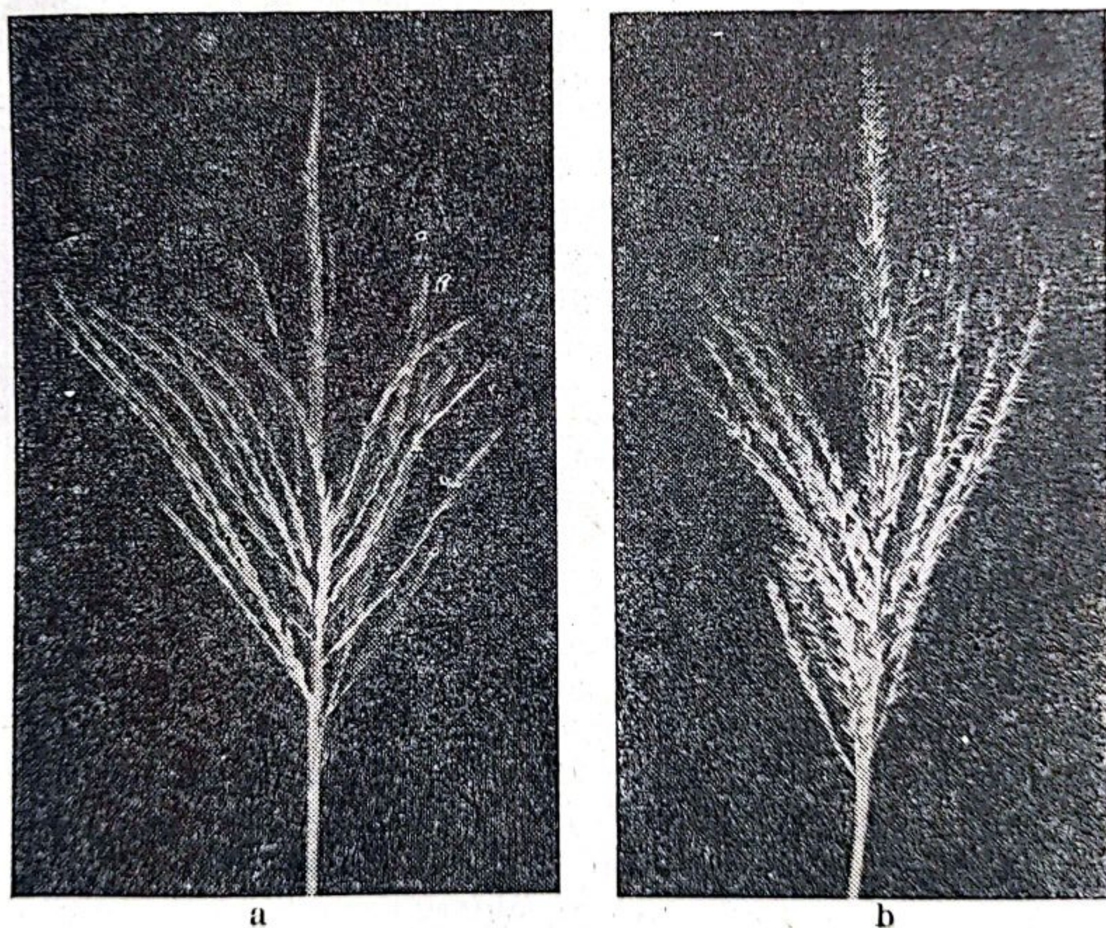


Fig. 40. Panicule de porumb: a — citoplasmic mascul steril; b — mascul fertil.

La porumb au fost descoperite diverse surse de sterilitate masculă citoplasmică. Una dintre aceste surse a fost descoperită de *J. S. Rogers* și *J. R. Edward-*

son (1952), la soiul Mexican June din Texas, S.U.A. și este cunoscut sub denumirea de *tipul Texas* (*T*). Această sursă a fost universal folosită în producerea seminței hibride comerciale de porumb pînă în jurul anului 1970.

Din acest an (1970) sămînța hibridă de porumb nu a mai putut fi produsă pe baza utilizării liniilor mascul sterile de tip Texas, deoarece toate formele care aveau citoplasmă *T* au fost puternic atacate de boala numită helmintosporioză *(Helminthosporium maydis)*. Sensibilitatea porumbului cu citoplasmă *T* la această boală are la bază o mutație produsă fie în citoplasma de tip Texas, fie în specia parazită. Acest fapt a impus scoaterea din sistemul de producere a seminței hibride de porumb a sterilității mascule determinată de plasmagene asociate cu citoplasma Texas.

În prezent, androsterilitatea citoplasmică se utilizează la multe alte specii de plante: sorg, sfeclă, floarea-soarelui etc. Acest tip de sterilitate se menține prin polenizări controlate cu forme mascul fertile analoge. Ea poate fi transferată prin retroîncrucișări (backcross) și la alte forme, folosindu-se de fiecare dată ca genitor patern soiul căruia urmează să-i fie transferată citoplasma sterilă. În fond, prin backcross, se introduce în citoplasma sterilizantă genomul unei forme dorite superioare formei donatoare de androsterilitate.

Folosirea liniilor pure (la plantele autogame) și a liniilor consangvinizate (la plantele alogame) cu citoplasmă sterilizatoare a polenului, înlătură necesitatea castrării, precum și pericolul autopolenizării, asigurînd obținerea de sămînță hibridă comercială în proporție de 100%. Folosirea sterilității mascule citoplasmice în producerea unor hibrizi cultivați pentru sămînță este posibilă doar în prezența unei surse normale de polen.

STERILITATEA MASCULĂ NUCLEO-CITOPLASMICĂ. Acest tip de sterilitate masculă este rezultatul interacțiunii sau cooperării plasmagenelor cu cromogenele (genele nucleare).

Sterilitatea nucleo-citoplasmică a fost descoperită și studiată pentru prima dată la ceapă de către *H. A. Jones* și colaboratorii săi (1943, 1944).

Încrucișarea liniilor consangvinizate androsterile din soiul de ceapă Italian Red, cu linii consangvinizate androfertile a dus la descoperirea faptului că în cazul unor combinații hibride, descendența este androfertilă. S-a presupus că în acest caz, au intervenit gene (nucleare) de la forma fertilă care modifică acțiunea plasmagenelor ce controlează ereditatea sterilității mascule. Aceste gene au căpătat denumirea de gene *restauratoare de fertilitate* și au fost simbolizate *Rf* (alela nerestauratoare *rf*). Descendența F_1 rezultată din încrucișarea unei linii sterile nucleo-citoplasmice (*Srfrf*; *S* — indică citoplasma sterilizantă) cu o linie restauratoare (*RfRf*) va fi heterozigotă fertilă (*SRfrf*), (fig. 41).

Încrucișarea unei plante androsterile (♀) cu o plantă heterozigotă restauratoare (♂) produce o descendență care segregă în 50% androsterili (*Srfrf*) și 50% androfertili restauratori heterozigoți (*SRfrf*). Astfel, se poate păstra tipul respectiv de androsterilitate la descendenți.

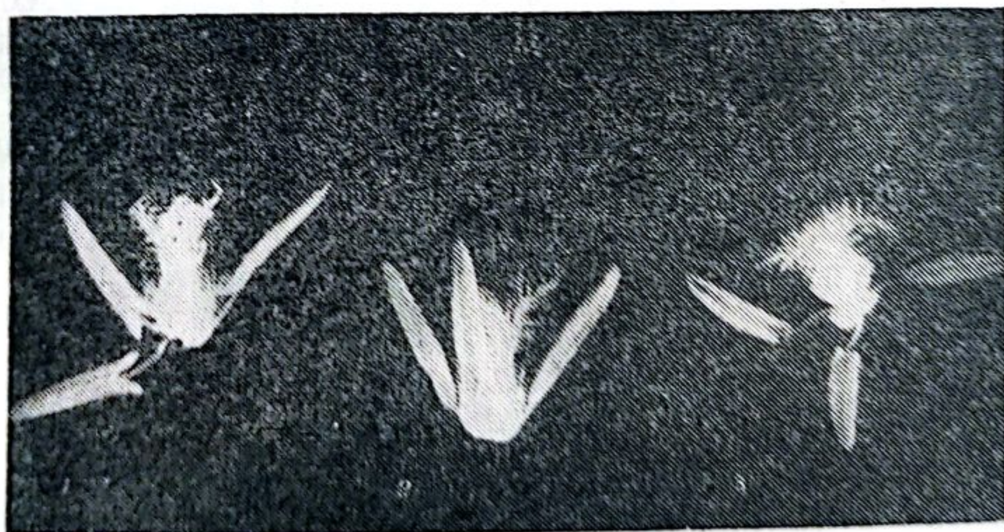


Fig. 41. Pistil și antere la grîu, *Triticum aestivum*: 1 — stamine caracteristice florilor de pe plantele citoplasmic mascul sterile; 2 și 3 — stamine mascul fertile (2 — de la plante restauratoare a fertilității polenului; 3 — de la o plantă normală).

Gene pentru restaurarea fertilității polenului în citoplasmă sterilizantă au fost descoperite și la alte plante cum sînt porumbul, sorgul, floarea-soarelui, grîul etc.

Prin descoperirea sterilității mascule nucleo-citoplasmice au fost învinse toate obstacolele din calea

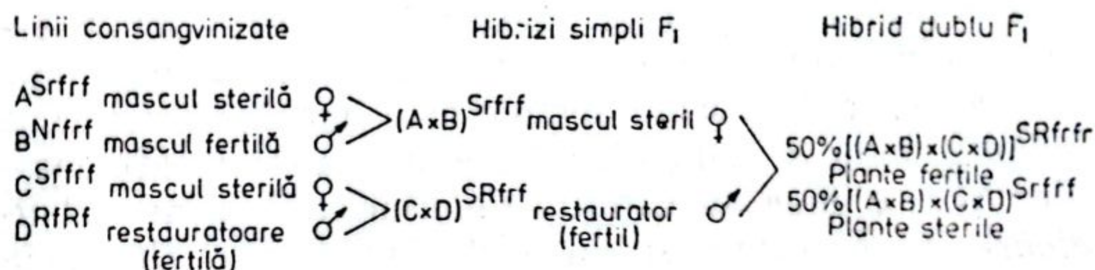


Fig. 42. Schema utilizării sterilității mascule citoplasmice și a genelor restauratoare în producerea seminței hibride duble fără castrare manuală.

producerii controlate și în masă, fără castrare manuală, a seminței hibride comerciale F_1, înzestrată cu vigoare hibridă sau heterozis.

Sterilitatea masculă citoplasmică și genele restauratoare a fertilității polenului se utilizează în producerea de sămînță hibridă comercială F_1, mai ales la plantele alogame hermafrodite și monoice, în două formule mai importante și anume, cu patru linii consangvinizate (sistemul *ABCD*) și cu trei linii consangvinizate (sistemul *ABR*).

În primul sistem, liniile A și C, utilizate ca forme materne posedă citoplasmă sterilizantă *S* (deci nu produc polen și ca urmare nu se castrează) avînd structura genetică *Srfrf*. Liniile B și D sînt utilizate ca polenizatori, dar au o structură genetică diferită și anume: B este normal fertilă (cu citoplasmă normală fără gene de restaurare) — *Nrfrf*, iar D este fertilă restauratoare — *RfRf*. Schema producerii seminței în sistemul ABCD, fără castrare, este dată în fig. 42.

În sistemul ABR de producere a semințelor hibride F_1 (sistem care tinde să se generalizeze), linia A este citoplasmic mascul sterilă (A^{Srfrf}), linia B este analogul fertil al liniei A, deosebindu-se de aceasta prin aceea că are citoplasmă normală —*N* (B^{Nrfrf}),

și se folosește pentru înmulțirea liniei analoge citoplasmic mascul sterile A. Linia R este restauratoare de fertilitate (R^{RfRf}) și se încrucișează controlat cu linia A castrată genetic pentru a produce hibridul simplu fertil $F_1(A \times R)^{SRfrf}$.

În general, tehnica de producere și înmulțire a liniilor restauratoare homozigote presupune testarea cu o formă citoplasmic mascul sterilă. În scopul de a avea sub control fenomenul restaurării, genomul restaurator se introduce în citoplasmă sterilizantă. Drept urmare, majoritatea liniilor restauratoare vor avea structura genetică *SRfRf* (citoplasma sterilizantă S nu se manifestă în prezența genei *Rf*).

REPRODUCEREA ȘI STRUCTURA GENETICĂ A DESCENDENȚEI

MECANISMELE GENETICE ALE DETERMINĂRII SEXULUI

Organismele iau naștere prin reproducere din formațiuni ale materiei vii cu un grad diferit de specializare. La originea oricărei ființe vii există obligatoriu una dintre unitățile care compun viul, adică o celulă care posedă toate atributele viului și asigură continuitatea lui. Capacitatea de reproducere sau autoreproducere a materiei vii este determinată de ereditate.

Ereditatea și variabilitatea la rîndul lor sînt strîns legate de formele de înmulțire. Dar, oricare ar fi modalitatea de reproducere, organismul se formează totdeauna pornind de la un fragment de organism din generația precedentă.

Modul de reproducere a organismelor a evoluat, perfecționîndu-se treptat.

La cele mai puțin evoluate specii se observă așa-numita *reproducere vegetativă nespecializată*. La acest grup nu există organe speciale de reproducere. Astfel, bacteriile și algele se reproduc prin *fisiune binară* sau

sciziparitate, adică se împart în două sau mai multe părți. Drojdiile se reproduc prin *înmugurire*. Din celula originară se formează muguri, iar cînd nucleul se divide, în mugure trece unul din nuclei, astfel că mugurele se poate separa devenind celulă independentă. Protozoarele și fitoflagelatele se reproduc prin *fragmentare multiplă*, adică prin separare sau fisiune multiplă.

Mai evoluată este *reproducerea asexuată*, la care genitorul prezintă unități reproducătoare specializate, de exemplu, spori, din care rezultă indivizi identici cu genitorul.

Organismele care rezultă prin reproducere asexuată sînt descendenții unui singur individ inițial. Asemenea descendenți, identici cu genitorul, moștenesc totalitatea caracteristicilor direct, printr-o ereditate simplă.

Modalitatea cea mai specializată de înmulțire a organismelor este *reproducerea sexuată*. Reproducerea sexuată presupune existența unor organe sexuale care produc gameți, din a căror singamie rezultă descendenții care reunesc ereditatea părinților. Reproducerea sexuată conferă descendenților o ereditate complexă.

Reproducerea sexuată este cea mai răspîndită modalitate de înmulțire a organismelor. Această modalitate de reproducere asigură mecanismele genetice ale diversificării organismelor, atît interspecific cît și intraspecific. Unirea în procesul fecundării a unor gameți diferențiați genotipic creează premisele segregării și recombinării genetice.

Relevarea mecanismelor de determinare a sexelor a preocupat pe biologi încă din antichitate. Ca urmare, și numărul teoriilor care și-au propus de-a lungul timpului să explice cauzele care stau la baza formării sexelor este mare.

Mecanismul genetic al determinării sexului a fost elucidat treptat, odată cu adîncirea cunoștințelor privitoare la structura și diviziunea celulară. La aceasta au contribuit cercetările de citologie din ultimele decenii ale secolului al XIX-lea și, cu deosebire, din primele decenii ale secolului al XX-lea.

Un moment important în procesul de cunoaştere a mecanismului genetic al determinării sexului, l-a constituit descoperirea de către citologul german *H. Henking* (1891) a faptului că la ploşniţele din genul *Pyrrhokoris*, la sexul mascul, gameţii sînt de două tipuri: jumătate posedă 12 cromozomi, iar jumătate posedă doar 11 cromozomi. La sexul femel toate ovulele posedă cîte 12 cromozomi. Această descoperire l-a îndemnat pe Henking să considere că cromozomii suplimentari la jumătate dintre spermatozoizi şi la toate ovulele sînt implicaţi în determinarea sexului. El a denumit aceşti corpusculi *cromozomi X (heterocromozomi, idiocromozomi)* etc.

În 1902, *C. E. McClung*, constată că celulele somatice ale femelelor la lăcuste *(Locusta viridissima)* au un cromozom mai mult comparativ cu celulele somatice corespunzătoare ale masculului. Cercetările citologice au stabilit că deosebirea în numărul de cromozomi este legată de sex, femelele avînd $2n=32$ cromozomi, iar masculii $2n=31$ cromozomi. Datorită acestui fapt, femelele produc un singur tip de gameţi $n=16$ cromozomi, iar masculii două tipuri de gameţi, jumătate $n=16$ cromozomi, iar jumătate $n=15$ cromozomi.

Descoperirea existenţei unei diferenţieri calitative între diferiţii cromozomi a determinat asocierea „cromozomului suplimentar" cu determinarea sexului. Faptul că se formează două tipuri de spermatozoizi în proporţii egale i-a permis lui *McClung* să presupună că în urma fecundării apar indivizi calitativ deosebiţi într-un raport egal.

Cîţiva ani mai tîrziu, *E. B. Wilson* şi *N. M. Stevens*, printr-o serie de cercetări (începute în 1905) pe diferite specii de insecte, au adus probe noi la teoria cromozomică a determinării sexului, demonstrînd că organismele unisexuate au un mecanism cromozomic pentru determinarea sexului. Cromozomii specializaţi care intervin în determinarea sexului au fost denumiţi *cromozomi ai sexului (heterocromozomi* etc.*)*, spre deosebire de restul cromozomilor dintr-un cariotip, denumiţi *autozomi*.

DETERMINAREA SEXULUI LA ANIMALE

Cromozomii sexului sînt simbolizați X și Y. Formula cromozomică XX determină *sexul homogametic* (care produce un singur tip de gameți), iar formula

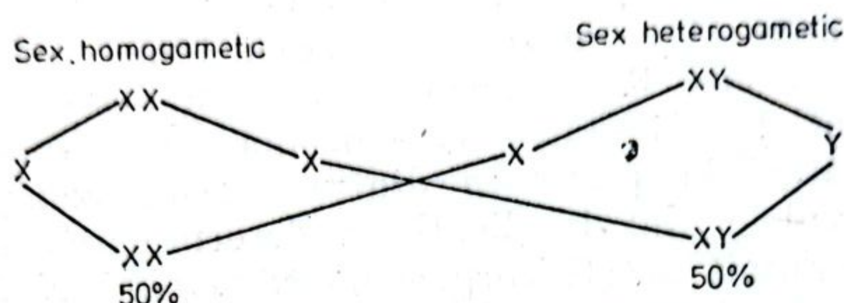


Fig. 43. Mecanismul genetic al determinării sexului și a raportului dintre sexe: unul dintre sexe produce două grupe de gameți *(sexul heterogametic)*, iar celălalt sex produce un singur grup de gameți *(sexul homogametic)*.

XO sau XY determină sexul *heterogametic* (care produce două tipuri de gameți) (fig. 43).

TIPUL DROSOPHILA DE DETERMINARE A SEXULUI. (Sexul mascul heterogametic). Caracteristic *tipului Drosophila* de determinare a sexului este faptul că *sexul mascul este heterogametic* cu formula cromozomală XO sau XY, producînd două grupe de spermatozoizi, iar *sexul femel este homogametic* cu formula XX, producînd un singur fel de gameți.

Sexul mascul heterogametic XO a fost descoperit de *Wilson* și *Stevens*, la speciile de insecte din genul *Protenor*. În acest gen celulele somatice ale indivizilor de sex femel au $2n=14$ cromozomi (12 autozomi și 2 heterocromozomi — XX), iar celulele somatice ale indivizilor de sex mascul au $2n=13$ cromozomi (12 autozomi și un singur heterocromozom — X). Deci, femelele sînt homogametice — XX, iar masculii heterogametici — XO. Acest mecanism sau mod de determinare a sexului este denumit tipul XO sau *Protenor*.

Modul *Protenor* de determinare a sexului se întîlnește mai ales la nevertebrate ca: lăcuste, greieri,

gîndaci de bucătărie, ploșnițe, păianjeni, miriapozi, nematozi etc.

Sexul mascul heterogametic XY a fost descoperit tot de *Wilson* și *Stevens*, la insecta *Lygaeus turcicus* ($2n=14$ cromozomi), de unde și denumirea dată acestui mecanism de determinare a sexului de *mod Lygaeus*.

La *modul Lygaeus* sexul mascul heterogametic XY produce două grupe de gameți diferențiate prin cromozomii X și Y. Sexul femel homogametic XX produce un singur tip de ovule X.

Mecanismul XY♂, XX♀ de determinare a sexului se găsește la *Diptera (Drosophila)*, la mamifere inclusiv la om, la majoritatea plantelor dioice etc.

La *Drosophila melanogaster* ($2n=8$ cromozomi), sexul femel posedă 6 autozomi (două seturi a cîte 3 autozomi simbolizate AA), plus o pereche de cromozomi ai sexului XX, iar sexul mascul 6 autozomi (două seturi AA), plus o pereche de cromozomi ai sexului diferiți XY. În urma ovogenezei rezultă ovule cu 3 autozomi (A)+X, iar în urma spermiogenezei rezultă spermatozoizi, din care jumătate sînt A+X, iar jumătate sînt A+Y. Masculul determină sexul descendenței, în urma contribuției cu cromozomi X pentru jumătate din zigoți și cu cromozomi Y pentru cealaltă jumătate. Astfel:

ovule X + spermatozoid X=50% zigoți XX (femele),
ovule X + spermatozoid Y=50% zigoți XY (masculi).

Potrivit *modului Lygaeus* se determină sexul și la om ($2n=46$ cromozomi). Sexul femel formează gameți (ovule) cu 22 autozomi și un cromozom X. La masculi, jumătate din spermatozoizi posedă 22 autozomi și un cromozom X, iar jumătate 22 autozomi și un cromozom Y. În momentul fecundării, se hotărăște sexul urmașilor: totul depinde de tipul de spermatozoid cu care s-a unit ovulul. Deci, dacă spermatozoidul care se unește cu ovulul conține un cromozom X, zigotul — XX, va fi de sex femel, iar dacă spermatozoidul posedă un cromozom Y, zigotul — XY, va fi de sex mascul. Așadar, unirea întîmplătoare a gameților determină

sexul descendenței, iar diferențierea cromozomilor în X și Y determină raportul între sexe de 1♀ : 1♂.

TIPUL ABRAXAS DE DETERMINARE A SEXULUI. (Sexul femel heterogametic). Caracteristic acestui mecanism este faptul că *sexul femel* este *heterogametic*, cu formula XO sau XY (sau ZO sau ZW). Datorită acestui fapt 50% dintre ovule vor poseda cromozomul Z(X), iar 50% vor fi lipsite de acest cromozom sau vor poseda cromozomul W(Y). Deci, și în cazul *tipului Abraxas* de determinare a sexului există două structuri pentru sexul femel heterogametic:

— *modul ZW:* sexul mascul este homogametic (ZZ), iar sexul femel este heterogametic (ZW). Acest mecanism a fost descoperit la fluturele *Abraxas grossulariata*. Se întîlnește la unele nevertebrate, unii amfibieni, și se pare că la toate speciile de păsări.

Sistemul sex femel heterogametic a fost descris prima dată la găini. La această specie, din cauza numărului mare de cromozomi ($2n=78$), a fost dificil de a afirma cu precizie dacă găina este ZW sau ZO. Studiile cariologice au relevat că din totalul cromozomilor (78) un număr de 66 sau 67 sînt mici (microcromozomi), iar restul sînt mari și reprezintă 6 grupe linkage. Cromozomii mari sînt repartizați pe sexe astfel: 12 cromozomi (inclusiv perechea de heterocromozomi ZZ) la sexul mascul (cocoș) și 11 cromozomi la sexul femel (găină). La găină al 11-lea cromozom este identic cu cromozomii din perechea ZZ de la cocoș, deci este heterozomul Z. Urmează ca cercetările să stabilească dacă nu cumva unul dintre microcromozomii din celulele găinii reprezintă heterocromozomul W, mult micșorat.

La viermele de mătase, *Bombyx mori*, sexul este determinat tot de mecanismul ZW♀ și ZZ♂.

Diferențierea ovulelor în două grupe egale, determină atît sexul cît și raportul de 1♀ : 1♂. Astfel:

ovul W + spermatozoid Z = zigot ZW — sex femel,
ovul Z + spermatozoid Z = zigot ZZ — sex mascul.

— *modul ZO:* masculii sînt homogametici (ZZ), iar femelele au un singur cromozom al sexului Z (ZO). Acest tip de determinare cromozomală a sexelor se întîlnește mai rar în natură fiind semnalat la nevertebrate, de exemplu la unele specii de lepidoptere, de aceea este cunoscut și sub denumirea de sistem fluture (*Phragmatobia fuliginosa*) și se pare că este prezent și la pești, reptile ș.a.

Raportul între sexe. În general, descendența organismelor unisexuate dioice segregă în privința sexului într-un raport constant și egal de 1 femelă : 1 mascul. Raportul 1♀ : 1♂ este cu atît mai exact cu cît populația cercetată este mai mare, iar factorii de mediu nocivi au acționat în aceeași măsură asupra indivizilor ambelor sexe.

Studiul comportării heterocromozomilor în meioză și fecundare a dus la descoperirea mecanismului genetic al determinării sexelor. Pe baza acestor cercetări se pot trage trei concluzii principale:

1 — sexul se hotărește în momentul fecundării în funcție de heterocromozomii prezenți în gameți;

2 — factorii ereditari care determină sexul se transmit de la o generație la alta prin aceleași mecanisme ca și factorii care determină celelalte caracteristici ereditare;

3 — diferențierea dintre sexe 1♀ : 1♂ are loc după un mecanism asemănător repartiției genelor alele în cazul testării unui monohibrid.

Din detalierea ultimei concluzii, rezultă că *unul dintre sexe (sexul heterogametic) se comportă ca și cînd este heterozigot* dominant pentru factorii genetici implicați în determinarea sexului, și ca urmare va produce două grupe de gameți, în timp ce *celălalt sex* (*sexul homogametic*) *se comportă ca și cînd este homozigot recesiv* producînd gameți de un singur tip. În descendență, în ambele cazuri apar două grupe de indivizi în raportul 1♀ : 1♂. Schematic, mecanismele sînt prezentate în fig. 43.

DETERMINAREA SEXULUI LA ORGANISMELE HAPLOIDE MASCULE. În cadrul unor

grupe de insecte, în special din ordinul *Hymenoptera* (albine, viespi, furnici etc.) în determinarea sexului intervine un mecanism deosebit. S-a observat că femelele sînt diploide ($2n$) și rezultă din ovule fecundate, iar masculii sînt *haploizi* (n), rezultînd din ovule nefecundate prin *partenogeneză* (gr. *parthenos* — virgin; *genesis* — a se naște).

Atît ovogeneza cît și spermiogeneza se desfășoară normal, producînd gameți femeli și masculi haploizi. Diferențierea sexelor rezultă din faptul că matca poate depune ouă fecundate cu potențialitatea de a deveni indivizi femele lucrătoare sau mătci, și ovule nefecundate care se dezvoltă partenogenetic, producînd indivizi masculi. Partenogeneza apare ca un fenomen normal la himenoptere.

Este interesant de precizat că albina meliferă — *Apis mellifera*, de sex femel (matca și albinele lucrătoare) este diploidă, avînd $2n=32$ cromozomi (30 autozomi și doi heterocromozomi X sau AA+XX), iar masculii sînt haploizi, avînd $n=16$ cromozomi (15 autozomi și un heterozom X sau A+X). Meioza la matcă este normală producînd numai ovule X. La mascul meioza se abate de la cursul normal. Astfel, nu are loc reducerea cromozomală, ci migrarea celor 16 cromozomi din spermatocită (în prima diviziune a meiozei) spre un singur pol, formînd un *nucleu de restituție*.

Ca urmare, după a doua diviziune meiotică rezultă doar 2 spermatozoizi ($n=16$; și nu 4 spermatide cum rezultă de obicei la organismele diploide).

Din cele menționate se desprinde faptul că la albină *pentru producerea sexului femel este necesară fecundarea* (ovul X+spermatozoid X=XX zigot femel), iar *pentru producerea sexului mascul este necesară partenogeneza* (ovul X $\xrightarrow{\text{partenogeneză}}$ mascul). Deci sexul femel are atît mamă cît și tată, iar sexul mascul are numai mamă și bunic.

La matcă și la mascul (trîntor), organele sexuale sînt dezvoltate normal, în timp ce la albinele lucrătoare (care nu au beneficiat în stadiul larvar decît timp de două zile de lăptișor de matcă), ovarele nu s-au dezvoltat în lipsa hormonilor sexului din hrană.

DETERMINAREA SEXULUI LA PLANTE

La plante, relevarea determinismului cromozomic al sexului se pune numai pentru speciile unisexuat dioice, la care există indivizi masculi și femele. De exemplu, la specia *Bryonia dioica*, există indivizi femele și masculi în raport de 1♀ : 1♂. Tot în genul *Bryonia* există o specie monoică, *Bryonia alba*, la care pe aceiași individ se găsesc atît flori femele, cît și flori mascule.

În scopul relevării mecanismului de determinare a sexului și a structurii genotipice a sexelor, geneticistul german *C. Correns* (1907), a efectuat încrucișări experimentale reciproce a celor două specii. Cînd a folosit specia *Bryonia alba*, în calitate de genitor matern, iar *Bryonia dioica* ca genitor patern, descendența a segregat în indivizi femeli și masculi în proporție relativ egală (50% femele : 50% masculi). La hibridarea reciprocă, *Bryonia dioica* ♀×*Bryonia alba* ♂, descendenții au fost aproape în exclusivitate de sex femel.

Analiza rezultatelor acestor încrucișări a dus la concluzia că sexul femel la *B. dioica* este homogametic (XX), iar sexul mascul este heterogametic (XY). (*B. alba* produce un singur fel de gameți femeli deci se comportă ca și cînd ovulele ar fi X).

C. Correns a descoperit, așadar, că la *Bryonia dioica*, determinarea sexelor și raportul dintre sexe are la bază un mecanism cromozomic asemănător celui existent la insecte cum este *Lygaeus turcicus* (tipul Drosophila de determinare a sexului *modul Lygaeus*).

Un mecanism cromozomal de determinare a sexului de tip Drosophila se întîlnește și la alte plante unisexuat dioice. De exemplu, la cînepă, *Cannabis sativa* ($2n=$ 20 cromozomi), plantele femele au 18 autozomi+XX, iar cele mascule 18 autozomi+XY, la *Melandrium album* ($2n=24$ cromozomi), plantele femele au 22+XX, iar cele mascule 22+XY. Tipul Drosophila de determinare a sexului acționează și la specia *Rumex angiocarpus*.

La unele specii din genul *Rumex* (*R. hastatulus*, $2n=8$ ♀, 9 ♂; *acetosa*, $2n=14$ ♀, 15 ♂) și la *Humulus japonicus* ($2n=16$ ♀, 17 ♂), determinismul sexelor este puțin

diferit, deoarece plantele femele au 2 cromozomi ai sexului — XX, iar cele mascule au 3 cromozomi ai sexului XY_1Y_2 sau chiar mai mulți. La *Humulus lupulus*, în determinarea sexelor sînt implicate două perechi de heterozomi: $X_1X_1X_2X_2$ la plantele femele și $X_1X_2Y_1Y_2$ la cele mascule. Se consideră că existența mai multor cromozomi Y se datorează în acest caz multiplicării greșite sau anormale a unui singur cromozom Y inițial (sau unor translocații heterozigote).

Cu privire la cromozomul Y, studiile au evidențiat faptul că la unele plante (*Vitis vinifera*, *Asparagus officinalis* etc.) sexul mascul poate avea atît formula XY cît și YY. Chiar în prezența a două doze din cromozomul Y indivizii sînt viabili (cu o reducere a fertilității polenului).

Din cele prezentate se desprinde cu pregnanță faptul că determinarea sexului este condiționată genetic, existînd un mecanism cromozomal caracteristic pentru apariția și dezvoltarea sexelor și prezervarea raportului între sexe de 1 ♀ : 1 ♂. Așadar, o pereche de cromozomi specializată, diferențiată prin număr sau formă controlează importantul mecanism al determinării sexului. Acest mecanism de diferențiere își lasă amprenta asupra întregului organism, deoarece același cariotip este prezent în totalitatea celulelor somatice ale corpului.

În concluzie, se poate afirma că datorită importanței reproducerii sexuate pentru ființele vii, în cursul evoluției în celulă s-a diferențiat un mecanism genetic (cromozomal sau genic), care realizează cu o precizie uimitoare procesele de înmulțire și de perpetuare a raportului dintre sexe, așa numitul *sex ratio*.

ROLUL HETEROCROMOZOMILOR ÎN DETERMINAREA SEXULUI

La vertebratele inferioare — pești și amfibieni, mecanismul determinării sexelor este variabil, în funcție de nivelul de evoluție al speciilor.

La pești, cromozomii sexului nu au putut fi identificați la microscop, cu toate că a fost relevat fenomenul de transmitere ereditară a unor caracteristici sex linkage.

Genetistul *O. Winge* (1922) a demonstrat indirect că la peștii *Guppy (Lebistes reticulatus)*, atît masculul cît și femela au un număr diploid de cromozomi $2n = 46$ (44 autozomi și 2 heterocromozomi). Nedeosebindu-se morfologic, cromozomii sexului nu au putut fi identificați citologic. Se poate deci aprecia că la pești, cromozomii sexului sînt încă nespecializați, deosebindu-se doar prin prezența unor loci responsabili pentru determinarea sexului. Lipsa de specializare este dovedită de faptul că la acest grup de organisme atît între cei doi cromozomi homologi ai sexului homogametic cît și între cromozomii heterologi ai sexului heterogametic, are loc fenomenul de crossing over. Recombinarea între genele situate în cromozomii X și Y la masculii heterogametici de *Lebistes* și în cromozomii Z și W la femelele heterogametice de *Xiphophorus maculatus* (rasa de acvariu) relevă marea homologie existentă între cromozomii sexului la pești. Este interesant de precizat că la *Xiphophorus maculatus*, în populațiile naturale (sălbatice) femelele sînt homogametice XX, iar masculii heterogametici XY, în timp ce la rasa de acvariu femelele sînt heterogametice ZW, iar masculii homogametici ZZ.

Cercetarea amfibienilor, de exemplu, a broaștei sud-africane *Xenopus laevis* ($2n = 36$ cromozomi), a relevat faptul că sexul femel este heterogametic — ZW, iar sexul mascul este homogametic — ZZ.

Experimental, atît la pești cît și la amfibieni, cu ajutorul grefelor de organe sexuale sau a hormonilor, s-a realizat inversiunea sexelor. Aceasta demonstrează faptul că mecanismul determinării sexelor este sub control genic, iar cromozomii sexului se află la începutul diferențierii.

În general, nici la reptile cromozomii sexului nu au fost evidențiați citologic. Fac excepție unele genuri la care cromozomii sexului manifestă diferențiere. Astfel, cromozomii sexului nu pot fi identificați la broaște

țestoase, crocodili și șopîrle (*P. Raicu*, 1974). Șerpii veninoși din familiile *Crotalidae*, *Elapidae* și *Viperidae* sînt considerați cei mai evoluați în privința mecanismului de determinare a sexului nu numai printre șerpi dar chiar dintre reptile. De exemplu, la viperă, au fost descoperiți heterocromozomii. Sexul femel este ZW, iar sexul mascul ZZ.

S-a stabilit că talia cromozomului W de la vipera femelă este mică comparativ cu restul cromozomilor și cu Z. Cercetările au relevat faptul că dintr-o pereche inițial homomorfică și într-o mare măsură homologă, unul dintre cromozomi s-a diferențiat prin acumularea factorilor care controlau formarea sexului heterogametic (W în heterogameția femelă). Din contră, cromozomul care a primit factorii determinanți pentru sexul homogametic (Z în heterogameția femelă) a rămas intact, conservîndu-și integralitatea sa. Se consideră că prima etapă morfologic identificabilă a diferențierii cromozomului W a constat în apariția unei inversiuni pericentrice (de exemplu, cromozom standard: *ABCD.EFGHI* — punctul indică centromerul; inversiunea pericentrică constă în inversarea unor segmente cromozomale de o parte și de alta a centromerului, urmată de schimbul reciproc al acestor segmente: *ABGFE.DCHI*).

După cum a fost deja menționat la păsări există un număr mare de cromozomi, dintre care unii mari, iar alții mici. La găină, macrocromozomii (cromozomii normali) sînt ușor identificați la microscop, în timp ce microcromozomii (cromozomi foarte mici) sînt greu identificați la microscop. Cromozomul W de la găină este mult mai mic comparativ cu heterocromozomul Z. Se apreciază că heterozomii sînt reprezentați de perechea a 5-a, formată din cromozomi metacentrici identici la cocoș și heterologi la găină.

La mamifere (cu unele excepții la mamiferele mai puțin evoluate), mecanismul cromozomal al determinării sexelor are o stabilitate deosebită și este de *tipul Drosophila* și anume: XX ♀, XY ♂. La acest grup de organisme, cromozomii sexului s-au diferențiat și spe-

cializat sub influenţa selecţiei naturale, care a prezervat schimbările structurale cromozomale favorabile reproducerii sexuate bazate pe dislocarea (ruperea) şi alocarea (alipirea) unor segmente cromozomale, în cadrul cromozomului sexului, între heterozomii X şi Y, şi între aceştia şi autozomi.

În general se admite că, condiţia prealabilă indispensabilă a întregii diferenţieri a cromozomului sexului (Y sau W) a fost perfecta sa izolare în meioză la sexul heterogametic de celălalt cromozom X sau Z. Chiar şi în cazurile în care în cei doi cromozomi ai sexului (XY sau ZW) există un segment homolog între care are loc crossing over, restul cromozomului Y sau W este alcătuit dintr-un segment *diferenţial* în care se află (printre alte gene complet sex linkage) tocmai genele sau determinanţii responsabili pentru unul din cele două sexe. Astfel, dacă la *tipul Drosophila* se simbolizează cu *M* gena pentru masculinitate situată în cromozomul Y şi cu *f* gena pentru feminitate situată în cromozomul X, structura genică *Mf* (respectiv YX) va determina întotdeauna sexul mascul (heterogametic), iar structura genică *ff* (respectiv XX) va determina întotdeauna sexul femel (homogametic). La *tipul Abraxas*, gena *F* se află în cromozomul W, iar gena *m* în cromozomul Z, ca urmare, structura genică *Fm* (WZ) va determina întotdeauna sexul femel (heterogametic), iar structura genică *mm* (ZZ) va determina întotdeauna sexul mascul (homogametic).

DETERMINAREA SEXULUI DE RAPORTUL HETEROCROMOZOMI-AUTOZOMI

Cercetările lui *C. B. Bridges* (între 1916—1922) avînd ca obiect de studiu *Drosophila melanogaster*, au dus la descoperirea faptului că la această specie cromozomul Y, deşi de dimensiuni mari, nu participă la determinarea sexului mascul (cromozomul Y este, în general, „gol“ de gene; în el sînt localizate una sau două gene care controlează fertilitatea masculilor).

Experienţele au scos în evidenţă faptul că în determinarea sexului la această specie joacă un rol important interacţiunea dintre cromozomii X şi autozomi.

După cum a fost deja precizat, la *Drosophila* sexul femel normal are doi cromozomi X, şi două garnituri de cromozomi autozomi, fiecare garnitură fiind simbolizată A. Această structură se notează XX : AA sau XX : 2A. Aşadar, raportul sau *sex-indexul* dintre cromozomii sexului şi autozomi, caracteristic *sexului femel normal*, este 1,0. La masculi, există un singur cromozom X pentru cele două seturi de autozomi sau 1X : 2A, deci sex-indexul sau raportul X/A este 1/2 sau 0,5. Constituţia genetică 2X : 3A, cu un sex-index 2/3 sau 0,67, intermediar între 1,0 şi 0,5, este prezent la indivizii intersexuaţi. Aşadar, cînd raportul X/A este intermediar între cel normal, caracteristic femelei şi masculului, individul este intersexuat. (Aceeaşi situaţie se întîlneşte şi la 3X : 4A sau 0,75).

Chiar şi în cazurile în care structura este 3X+Y : 3A, respectiv 3X+Y : 4A, indivizii au fenotip femel masculinizat. Reiese că prezenţa cromozomului Y nu este suficientă pentru ca împreună cu seturile de autozomi să producă masculi normali.

Aceste constatări au dus la concluzia că la Drosophila numai prezenţa cromozomilor sexului în structura XY nu asigură dezvoltarea sexului mascul, deoarece structura XO este de sex mascul (dar mascul steril).

Rezultă că la Drosophila determinarea sexului este condiţionată de raportul X/A.

Există cazuri cînd raportul X/A este mai mare decît 1,0, sau mai mic decît 0,5. În asemenea situaţii indivizii sînt supersexuaţi şi anume: sînt superfemele (sterile) la structura 4X : 3A (sex-index 1,33) şi 3X : 2A (sex-index 1,50) şi supermasculi (sterili) la structura 1X(Y) : 3A (sex-index 0,33).

Aceste exemple demonstrează că factorii feminizanţi sînt localizaţi în cromozomul X, în timp ce factorii masculinizanţi sînt localizaţi în autozomi. Deci cromozomul Y nu conţine nici un factor masculinizant, deoarece structura 2A+XXY este femelă (X/A=1,0), iar structurile 2A+X sau 4A+XX(X/A=0,5)

sînt masculi chiar și în lipsa cromozomului Y (însă sterili).

Apariția unor indivizi cu alte structuri ale cromozomilor sexului decît cele normale are la bază fenomenul *nondisjuncției* cromozomilor sexului în spermatogeneză și ovogeneză. Ca urmare, pot apărea unele ovule cu 2 cromozomi X, (XX+A), iar altele lipsite de cromozomul X(O+A) precum și unii spermatozoizi cu XY(XY+A), iar alții lipsiți de cromozomul sexului (O+A). Participarea la fecundare a unor asemenea gameți determină, de obicei, apariția unor indivizi cu un număr variabil de cromozomi ai sexului.

ROLUL CROMOZOMILOR Y ȘI W ÎN DETERMINAREA SEXULUI HETEROGAMETIC

Determinarea sexului mascul de raportul X/A este caracteristic pentru *Drosophila melanogaster*. La alte specii de tipul XX♀, XY♂, sexul mascul depinde tocmai de prezența cromozomului Y.

La vertebrate, cu deosebire la șoarece și la om, precum și la unele plante dioice cum este *Melandrium album*, cromozomul Y hotărăște masculinitatea indivizilor. De exemplu, la om numai zigoții care posedă cromozom Y se dezvoltă ca indivizi de sex mascul. Mai mult, spre deosebire de structura cromozomală masculă normală XY, și structurile XXY, XXXY, și chiar XXXXY au fenotip masculin. Structura XO la om este de sex femel (la Drosophila : XO este sex mascul, sex-index 0,5).

La *Melandrium album* ($2n=24$ cromozomi), plantele femele au 22 autozomi+XX, iar plantele mascule au 22 autozomi+XY. La această specie au fost obținute sub influența colchicinei forme poliploide : autotetraploizi — $4x(2n=4x=48)$, autohexaploizi — $6x(2n=6x=72)$ etc. La aceste forme, odată cu multiplicarea autozomilor s-au multiplicat și heterozomii. Analiza plantelor autotetrapoliploide a relevat faptul că structura cromozomală $4x$: 4A+XXYY este masculă, ca

și forma obișnuită 2A+XY (forma 4A+ XXXX este femelă; ca și 2A+XX). Aceste experiențe au permis să se cunoască faptul că la *Melandrium album* sexul este determinat de heterozomii X și Y: în cromozomul X fiind situate genele feminizante, iar în cromozomul Y cele masculinizante.

La viermele de mătase (*Bombyx mori*), sexul este dependent de heterozomii Z și W. Astfel, sexul femel este determinat de prezența cromozomului W (sexul femel WZ), iar sexul mascul este determinat de prezența în două doze a cromozomului Z (ZZ).

Setul cromozomal diploid al oricărui organism se realizează în momentul fecundării indiferent dacă mecanismul determinării sexului este controlat de raportul X/Y, Z/W sau X/A. Meioza asigură în mod normal fiecărui gamet jumătate din setul de cromozomi caracteristic speciei, iar fecundarea reface garnitura diploidă și determină sexul viitorului organism.

În general, la animalele superioare, mecanismul cromozomal de determinare a sexelor este foarte stabil. Cu toate acestea, în anumite circumstanțe, apar tulburări în mecanismele de determinare a sexului, precum și în procesele de dezvoltare fenotipică a sexului. Acestea sînt considerate însă ca abateri care au rolul de a scoate și mai mult în relief stabilitatea sistemului cromozomal de asigurare a diferențierii sexelor.

ANOMALII ÎN DETERMINAREA ȘI DEZVOLTAREA SEXELOR

GINANDROMORFISM. Uneori, datorită unor anomalii în segmentarea zigotului sau în diviziunea mitotică embrionară, apar indivizi cu părți ale corpului tipic mascule și altele tipic femele. Fenomenul a căpătat denumirea de *ginandromorfism* (de la grec. *gyn* — femelă; *andro* — mascul). Acest fenomen apare destul de des la nevertebrate. Astfel, a fost descoperit la albine, fluturi, muște, păianjeni, crustacee. Indivizi

ginandromorfi apar însă și la unele animale mai evoluate, inclusiv la om.

La *Drosophila melanogaster*, ginandromorfii provin din zigoți XX (sex femel), care au pierdut în unele

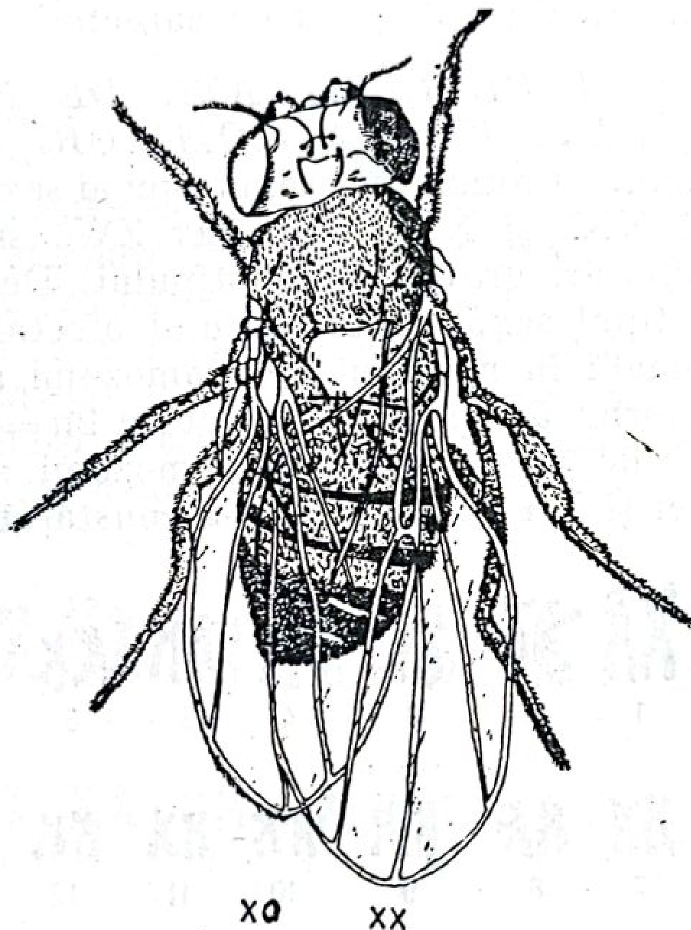


Fig. 44. Ginandromorfism bilateral la *Drosophila melanogaster* (stînga XO — mascul, dreapta XX — femel).

dintre celulele embrionului un cromozom X în primele diviziuni; astfel, că jumătate a corpului are structura XX — femelă, iar cealaltă jumătate structura XO — masculă. Frecvența ginandromorfilor la Drosophila este de aproximativ un individ ginandromorf la 2 000 indivizi normali. Ginandromorfii sînt incapabili de a se reproduce, datorită dezvoltării anormale a organelor sexuale (fig. 44).

La om, ginandromorfii și *mozaicurile sexuale* se formează din zigoți XY (mascul), care pierd în cursul primei diviziuni mitotice un cromozom Y din una din

celule. În acest caz, cele două celule rezultate din segmentarea zigotului vor poseda: una 44 autozomi+XY, din care se va dezvolta jumătate de corp cu caracteristici mascule, alta 44 autozomi+XO, din care se va dezvolta jumătate de corp cu caracteristici femele.

ANOMALII DETERMINATE DE NON-DISJUNCȚIA HETEROCROMOZOMILOR. Includerea în zigoți a unui alt număr de cromozomi ai sexului decît cel normal, XX♀ și XY♂, respectiv ZW♀ și ZZ♂, determină tulburări grave ale fenotipului. De exemplu, la om, fenotipul sexual este profund afectat în cazurile de anomalii în numărul de cromozomi ai sexului. Garnitura normală diploidă la om este $2n=46$ de cromozomi: 44 de autozomi și 2 cromozomi ai sexului, XX la femei și XY la bărbați. S-a constatat că la om

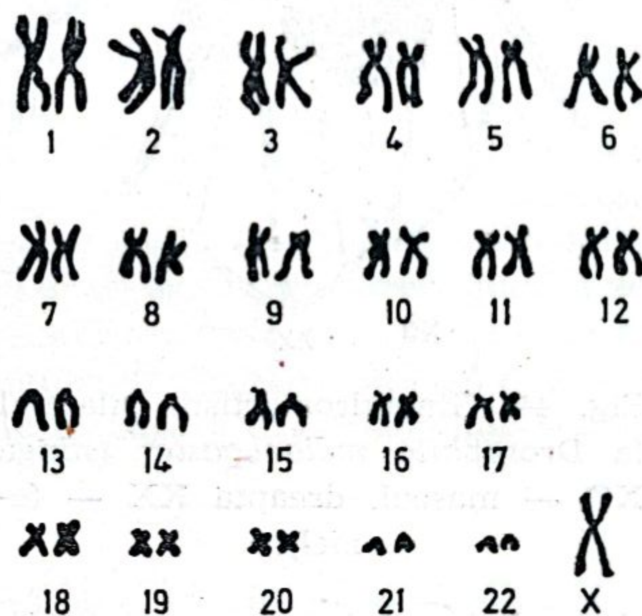


Fig. 45. Idiograma unui individ femel afectat de *sindrom Turner*. Anomalia este asociată cu pierderea unui cromozom X sau monosomie ($2n=46-1$ sau 44 autozomi+X).

orice abatere de la numărul normal al heterozomilor provoacă grave anomalii corporale și psihice.

Una dintre aceste anomalii este *sindromul Turner* întîlnit la femei. În acest caz în ovogeneză datorită

non-disjuncției perechii XX, vor rezulta ovule cu XX și ovule lipsite de cromozomul X (care vor poseda numai setul de 22 autozomi). Or, la unirea unei ovule 22+O cu un spermatozoid X normal (22+X) rezultă un individ de sex femel 44+XO ($2n=45$), care este sterilă, bolnavă psihic și cu anomalii ale caracterelor sexuale secundare (fig. 45). Pot apărea și indivizi 44+XXX, care sînt superfemele sterile, debile mintal(fig. 46).

O altă anomalie este *sindromul Klinefelter* la masculi. Acest sindrom apare în cazurile în care un ovul cu 2 cromozomi X (22 autozomi+XX) este fecundat de un spermatozoid Y normal (22+Y). Rezultă, un individ 44+XXY ($2n=47$) de sex mascul care suferă de obezitate, sterilitate și afecțiuni psihice. Indivizii 44+XXXY sînt masculi asemănători Klinefelter. Structura 44+Y

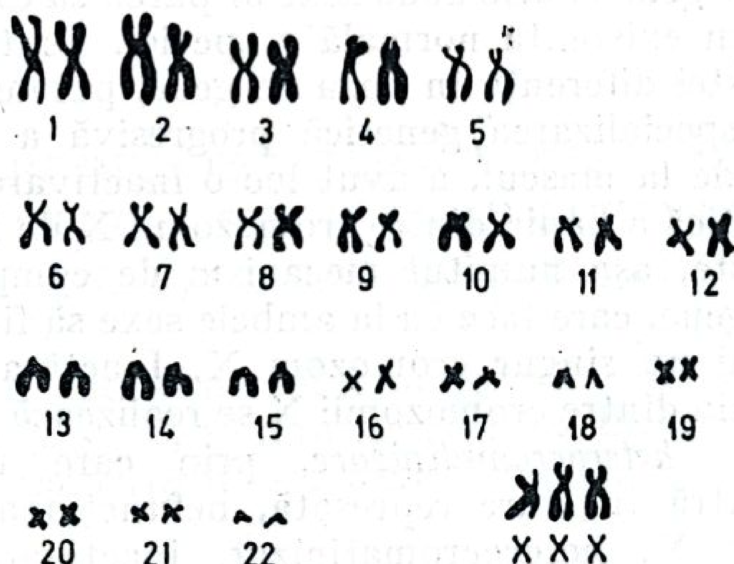


Fig. 46. Idiograma unui individ femel afectat de *sindrom triplu* X. Anomalia este determinată de trisomia cromozomului X ($2n=46+1$ sau 44 autozomi+ +XXX).

nu-a fost descoperită, ceea ce indică faptul că lipsa cromozomului X este letală.

Bărbații 44+XYY sînt anormali și se pare că sînt predispuși spre agresivitate.

CROMATINA SEXULUI SAU CORPUSCULUL BARR. La mamifere, în cursul evoluției, cromozomii sexului X și Y au suferit un proces continuu de specializare genetică. Astfel, cromozomul Y a pierdut unele dintre genele originare și a prezervat genele pentru controlul transformării gonadei embrionare în testicul. Concomitent, genele linkage cu cromozomul X au dobîndit capacitatea de a se manifesta și atunci cînd sînt prezente într-o singură doză, adică în *stare hemizigotă* (la indivizii masculi, dar și la femele).

Dacă cromozomul Y a suferit o reducere în numărul genelor, înseamnă că la tipul de determinare a sexului în care femela este XX, iar masculul XY, va apărea o diferență între cantitatea de gene (doză de gene) la mascul și la femelă, deoarece femela are doi cromozomi X, iar masculul numai unul. Această diferență cauzată de doza de gene la cele două sexe ar părea că este incompatibilă cu existența normală a speciei. Pentru prevenirea acestei diferențe în doza de gene, paralel cu limitarea și specializarea genetică progresivă a cromozomului Y de la mascul, a avut loc o inactivare funcțională genetică a unuia dintre cromozomii X de la femelă. Acesta este, așa numitul mecanism de compensare a dozei de gene, care face ca la ambele sexe să fie funcțional numai un singur cromozom X. Inactivarea genetică a unuia dintre cromozomii X se realizează printr-un proces de *heterocromatinizare*, prin care materialul genetic intră în stare represată, nefuncțională. Acest cromozom X, heterocromatinizat, inactivat genetic, apare în interfază ca un corpuscul rotund, oval sau triunghiular, lipit de membrana internă a nucleului, numit *cromatină sexuală* sau *corpuscul Barr*.

În condiții normale, la mamifere femela apare *Barr* + adică prezintă în nucleul interfazic corpusculul Barr, iar masculul *Barr* —, neprezentînd cromatină sexuală. În cazul unor indivizi anormali care conțin mai mulți cromozomi X (3—5), numărul de corpusculi Barr este egal cu numărul respectiv minus 1.

Fenomenul compensării de doză de gene pare că este absent la păsări la care determinarea sexului are

la bază, după cum am văzut, un mecanism cromozomal, opus celui al mamiferelor, în sensul că femela este heterogametică, iar masculul homogametic. Cercetările au demonstrat că la păsări (la cocoși) cei doi cromozomi Z se replică simultan cu autozomii și, ca urmare nu formează cromatină sexuală. Studii recente au arătat că, cromatina sexuală care apare în celulele femelelor provine din cromozomul W, care este heterocromatinizat. În ceea ce privește cromozomul Z, el apare în toate cazurile eucromatic.

Absența mecanismului de compensare de doză a genelor la păsări demonstrează că la păsări, acest mecanism nu este absolut necesar pentru supraviețuirea indivizilor masculi, însă se poate considera că din această cauză evoluția ulterioară a acestui grup de organisme s-a desfășurat cu dificultăți.

EREDITATEA CARACTERISTICILOR CONTROLATE DE GENE LOCALIZATE ÎN CROMOZOMII SEXULUI

Genele localizate în cromozomii sexului X și Y, respectiv Z și W, se numesc *gene sex linkage*, care controlează *caracteristici sex linkage* sau *caracteristici legate de sex*.

Genele sex linkage pot fi de două tipuri: 1 — *gene complet sex linkage* cu cromozomul X sau Z (X sau Z complet sex linkage) sau cu cromozomul Y sau W (Y sau W complet sex linkage); și 2 — *gene incomplet sex linkage*, care se găsesc în ambii cromozomi ai sexului X și Y sau Z și W, în segmente homologe de aceea se transmit ca orice gene autozomale, segregînd mendelian. Fiind localizate în porțiuni homologe, aceste gene, deși foarte rar, își pot modifica poziția prin crossing over (fig. 47).

Genele complet sex linkage, fie cu X sau Z, fie cu Y sau W, au un mecanism special de transmitere la

descendenţi, deosebit de mecanismul de transmitere a genelor autozomale.

EREDITATEA CARACTERISTICILOR COMPLET SEX LINKAGE LA TIPUL DROSOPHILA (XX♀, XY♂). **Caracteristici X complet sex linkage.** La *D. melanogaster*, culoarea ochilor este controlată de un locus situat în cromozomul X. Alela dominantă *W* determină ochi roşii, iar alela recesivă *w* determină ochi albi.

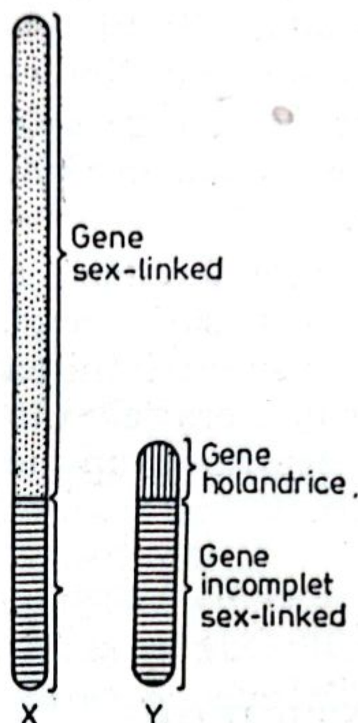


Fig. 47. Genele sex linkage la om. Atît în cromozomul X cît şi în cromozomul Y există atît *gene complet sex linkage* (cu X sau cu Y), cît şi *gene incomplet sex linkage*.

Încrucişarea *ochi roşii* (X*W*X*W*)♀ ×*ochi albi* (X*w*Y)♂ determină în F_1 o descendenţă în totalitate cu *ochi roşii*, deoarece toţi indivizii posedă o alelă *W*; femelele au structura X*W* X*w*, iar masculii X*W*Y. În F_2, din încrucişarea indivizilor F_1, rezultă un raport de segregare de 3/4 roşu: 1/4 alb. Astfel, toate femelele au ochi roşii (cu structura X*W*X*W* şi X*W*X*w*) şi jumătate dintre masculi (X*W*Y), în timp ce jumătate dintre masculi (deci 1/4 din totalul descendenţei) au ochi albi (X*w*Y) (fig. 48).

La încrucişarea reciprocă, *ochi albi* (X*w*X*w*)♀ ×*ochi roşii* (X*W*Y)♂, cele două caracteristici se transmit încrucişat de la un sex la alt sex, fenomen cunoscut sub denumirea de *ereditate criss-cross*. Astfel, în F_1, toate femelele au ochi roşii (de la tată) fiind X*W*X*w*, iar toţi masculii ochi albi (de la mamă) fiind X*w*Y.

La om, în cromozomii sexului se găsesc loci care controlează diverse caracteristici legate de sex (determinate de gene sex linkage), şi, ca urmare, se transmit pe linia unui sex sau altul, odată cu cromozomii sexului. Mutaţia la nivelul locilor sex linkage nu cuprinde în aceeaşi măsură toţi indivizii unei specii ci numai

indivizii afectaţi, dar într-o măsură diferită de la un sex la altul. Cînd locusul mutant se afla în autozomi mutaţia afectează în egală măsură indivizii din ambele sexe.

Unele boli grave la om sînt rezultatul tocmai al mutaţiilor genelor sex linkage. De exemplu, apariţia unor maladii cum sînt: hemofilia, daltonismul etc. este cauzată de alele mutante recesive sex linkage cu cromozomul X. După cum se ştie, hemofilia constă în imposibilitatea coagulării sîngelui. Transmisă prin cromo-

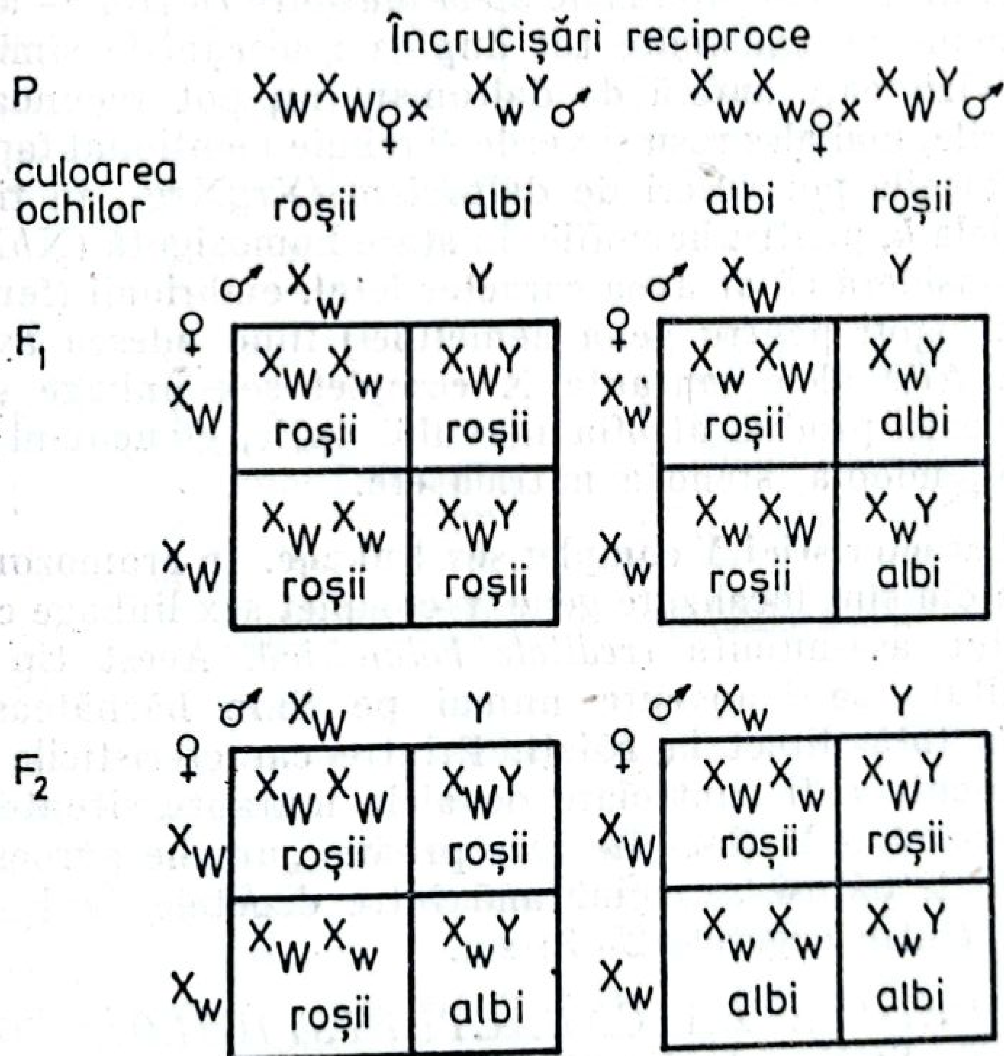


Fig. 48. Transmiterea genelor sex linked (înlănţuite cu cromozomii sexului) în F_1 şi F_2 la *tipul Drosophila* de determinare a sexului (încrucişarea reciprocă între musculiţe cu *ochii roşii* — dominant×*ochi albi* — recesiv; locusul *w* pentru culoarea ochilor este localizat în cromozomul X). La încrucişarea *ochi albi* ♀×*ochi roşii* ♂ se manifestă fenomenul de transmitere ereditară *criss-cross*.

zomul X, hemofilia se manifestă mult mai frecvent la bărbaţi la care fiind un singur cromozom X, la locusul respectiv se găseşte o singură alelă, fie *H* — sînge normal, fie *h* — sînge hemofilic. Mamele sănătoase în aparenţă (sănătoase fenotipic) dar bolnave genetic (*Hh*) transmit maladia la jumătate dintre băieţi (1/2 X*H*Y — sănătoşi şi 1/2 X*h*Y — bolnavi). Situaţia este aceeaşi pentru toţi locii din cromozomul X, care în sexul mascul se găseşte într-un singur exemplar, stare cunoscută sub denumirea de *hemizigoţie*.

Daltonismul produs de alela mutantă *rg* (*Rg* — alela normală) se transmite tot după un mecanism similar. Indivizii care suferă de daltonism nu pot recunoaşte culorile, mai ales roşu şi verde. Trebuie menţionat faptul că femeile pot suferi de daltonism (X*rg*X*rg*), în timp ce alela *h*, pentru hemofilie în stare homozigotă (X*h*X*h*) se consideră că ar avea caracter letal, embrionii (femeli homozigoţi pentru gena hemofiliei) fiind adesea avortaţi. Alte alele mutante X complet sex linkage sînt cele care produc atrofia nervului optic, glaucomul juvenil, miopia, stenoza mitrală etc.

Caracteristici Y complet sex linkage. În cromozomul Y la om sînt localizate gene Y complet sex linkage care produc aşa-numita *ereditate holandrică*. Acest tip de ereditate se transmite numai pe linie bărbătească, de la tată direct la băieţi. Printre caracteristicile recunoscute a fi controlate de alele mutante situate în cromozomul Y sînt cele care produc „ureche păroasă", „bărbaţi păroşi", „membrană între degetele de la picior" (între degetele 2—3) ş.a.

EREDITATEA CARACTERISTICILOR COMPLET SEX LINKAGE LA TIPUL ABRAXAS. **Caracteristici Z complet sex linkage.** Expresia genelor sex linkage cu Z se poate urmări la găini, la care culoarea penajului este folosită pentru marcarea sexelor, sau *autosexare*.

Culoarea penajului la găini este controlată de un locus localizat în cromozomul Z, la care se găsesc cîteva alele: penajul vărgat — porumbac este contro-

lat de alela *B* (dominantă), penajul negru sau roșu de alela recesivă *b* ș.a.

La încrucișarea *penaj negru* (Z*b*W)♀×*penaj vărgat* (Z*B*Z*B*)♂, în F_1 toți indivizii vor avea penaj vărgat

Încrucișări reciproce

P $X_b(Y?)$♀×X_BX_B♂ $X_B(Y?)$♀×X_bX_b♂

culoarea penajului: nevărgat, vărgat; vărgat, nevărgat

F_1

♀ \ ♂	X_B	X_B
X_b	X_bX_B vărgat	X_bX_B vărgat
(Y?)	$X_B(Y?)$ vărgat	$X_B(Y?)$ vărgat

♀ \ ♂	X_b	X_b
X_B	X_BX_b vărgat	X_BX_b vărgat
(Y?)	$X_b(Y?)$ nevărgat	$X_b(Y?)$ nevărgat

F_2

♀ \ ♂	X_B	X_b
X_B	X_BX_B vărgat	X_BX_b vărgat
(Y?)	$X_B(Y?)$ vărgat	$X_b(Y?)$ nevărgat

♀ \ ♂	X_B	X_b
X_b	X_bX_B vărgat	X_bX_b nevărgat
(Y?)	$X_B(Y?)$ vărgat	$X_b(Y?)$ nevărgat

Fig. 49. Transmiterea genelor sex — linked în F_1 și F_2 la *tipul Abraxas* de determinare a sexului (încrucișarea între găini cu *penaj nevărgat* — recesiv×*penaj vărgat* — dominant; sexul femel este indicat X(Y?), (locusul *b* pentru culoarea penajului este localizat în cromozomul X sau Z). Încrucișarea reciprocă *penaj vărgat* ♀ ×*penaj nevărgat* ♂ relevă mecanismul eredității *criss-cross*.

(femelele Z*B*W, iar masculii Z*B*Z*b*). În F_2 descendenții segregă în raportul 3/4 vărgați: 1/4 negru (fig. 49).

La încrucișarea inversă, *penaj vărgat* (Z*B*W)♀× *penaj negru* (Z*b*Z*b*)♂, în F_1 se manifestă fenomenul de ereditate *criss-cross*, adică masculii vor fi toți vărgați (Z*B*Z*b*) ca mamele, iar femelele vor fi negre (Z*b*W) ca tații.

Autosexarea permite o separare a puilor la scurt timp după ecloziune, fapt ce creează condiții pentru separarea puilor în cele două sexe după culoarea pufului. Ca urmare, se poate asigura o alimentație diferențiată puilor, pentru producția de carne sau reproducere.

HORMONII ŞI DEZVOLTAREA FENOTIPICĂ A SEXULUI

Determinarea sexului are un caracter precis și se realizează în momentul fecundării, Celula-zigot este determinată sexual. Dezvoltarea ulterioară a sexului la animalele mai evoluate beneficiază de aportul hormonilor sexuali.

La animalele vertebrate, celula-ou fecundată — zigotul, are o structură heterocromozomică precisă, care implică mecanismul genetic de determinare fie a sexului femel, fie a sexului mascul. Datorită tocmai faptului că determinarea sexului se hotărăște în momentul sincariogenezei, la mamifere, perioada de început a embriogenezei este considerată ca etapa genetică a procesului de dezvoltare a sexului. Această etapă are o durată variabilă. Astfel, la om debutează în momentul fecundării și apariției zigotului și durează aproximativ 35 de zile de gestație.

Perioada cuprinsă între aproximativ a 35-a zi și aproximativ a 60-a zi a embriogenezei a fost numită etapa gonadică a procesului de dezvoltare a sexului. În această etapă în embrion are loc diferențierea gonadelor. Acest proces este controlat în embrion de structura cromozomilor sexului și de informația genetică adusă de ei. Astfel, în embrionul XX-femel, se diferențiază ovarele, iar în embrionul XY — mascul, se diferențiază testiculele.

Ulterior, în embriogeneză și post natal are loc morfogeneza organelor genitale și procesul de dezvoltare fenotipică a sexului. Aceste procese se petrec în așa numita etapă hormonală de dezvoltare a sexului, în care go-

nadele prin secrețiile lor de hormoni desăvîrșesc formarea organismelor unisexuate. Astfel, în timpul embriogenezei testiculul embrionar secretă hormoni androgeni care stimulează dezvoltarea organelor sexuale interne mascule și frînează dezvoltarea celor femele. Lipsa hormonilor androgeni testiculari embrionari determină dezvoltarea pasivă a unor organe genitale femele interne. Un proces aproximativ similar are loc și în embrionul femel. Hormonii sexuali: foliculina și progesteronul secretate de ovare și testosteronul secretat de testicule, determină, de asemenea, formarea organelor genitale externe și contribuie la dezvoltarea caracterelor sexuale secundare.

În perioada pubertății și adolescenței, are loc desăvîrșirea dezvoltării și diferențierii sexuale a indivizilor sub acțiunea acelorași hormoni, care au rolul de a induce și a menține apetitul sexual.

Hormonii sexuali sînt secretați în cantități mici direct în circuitul sangvin. Ei acționează asupra echipamentului enzimatic celular, stimulînd astfel funcția metabolică a glandelor sexuale, precum și a altor țesuturi și organe.

Ovarele și testiculele au o funcție dublă: pe de o parte, de a produce celule sexuale (gameți) necesare procesului de reproducere sexuată, iar pe de altă parte, de a secreta hormoni sexuali necesari diferențierii și dezvoltării organelor sexuale și caracterelor secundare sexuale.

Cercetarea rolului secrețiilor gonadelor a relevat faptul că în unele situații, hormonii sexuali pot determina o serie de anomalii în dezvoltarea fenotipică a sexului. O anomalie extremă produsă de excesul de hormoni este *reversia sexelor*. Astfel, la unele vertebrate, un individ cu un anumit sex genetic, de exemplu mascul, sub influența hormonilor femeli se poate modifica fenotipic într-un individ de sex femel și invers.

Evidențierea rolului hormonilor sexuali se poate realiza și prin alte procedee. De exemplu, la găini s-a constatat că prin castrarea timpurie a gonadelor, atît masculii cît și femelele evoluează în privința penajului și al crestei spre indivizi fără sex sau neutri (fig. 50).

Influența hormonilor asupra fenotipului sexului a fost demonstrată și prin cercetarea taurinelor. S-a observat astfel, că la taurine, gemenii de același sex,

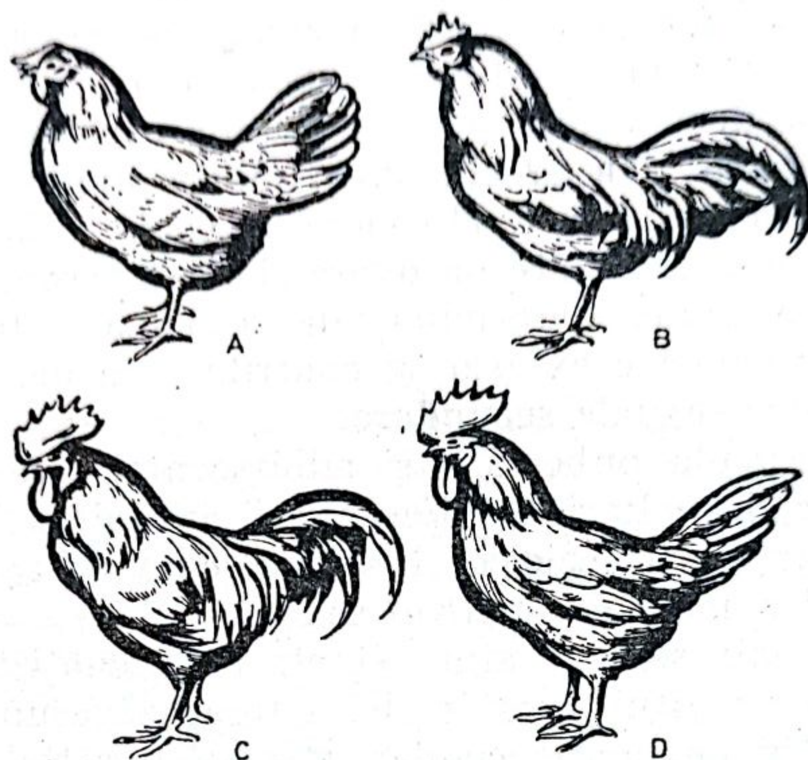


Fig. 50. Relevarea efectului tratamentului cu hormoni la păsări: A — găină normală; B — găină căreia i s-a extirpat ovarele și la care s-a dezvoltat un fenotip mascul; C — găină cu ovare extirpate și cu grefă de testicule care s-a dezvoltat în direcția unui fenotip tipic mascul; D — găină cu ovare neeliminate și cu testicule grefate (după *A. M. Winchester*, 1963).

fie femele, fie masculi, au o dezvoltare normală. În cazul unor gemeni de sex opus, deci un mascul și o femelă, s-a constatat că gemenii de sex femel sînt obișnuit anormali, fiind sterili și manifestă caractere sexuale secundare mascule. Fenomenul acesta este cunoscut sub denumirea de *free-martin*. Acest fenomen, care apare și la om, se explică prin aceea că hormonii sexuali ai embrionului mascul sînt secretați de testiculul embrionar mai de timpuriu decît cei femeli. După secretare acești hormoni trec din embrionul mascul prin placentă în circuitul sangvin matern de unde pătrund în embrionul femel, care se masculinizează,

dezvoltîndu-se anormal. La taurine, peste 90% din femelele gemene cu masculi sînt afectate de fenomenul de *free-martinism*.

La plante, de exemplu la specia dioică *Melandrium album* tratarea plantelor mascule cu hormoni animali sexuali femeli determină, pe de o parte inhibarea parţială a dezvoltării organelor sexuale mascule (stamine), iar pe de altă parte, stimulează dezvoltarea în flori a organelor sexuale femele (pistile). Tratarea plantelor femele cu hormoni testiculari a stimulat dezvoltarea staminelor și a inhibat dezvoltarea pistilelor.

Cercetări destul de recente au dus la descoperirea faptului că la plantele cu flori dezvoltarea organelor sexuale poate fi profund afectată de substanţe regulatoare de creștere cum sînt: auxinele, giberelinele, gametocidele etc. Auxinele și giberelinele pot produce chiar reversia completă a sexelor, iar gametocidele pot provoca sterilitate masculă, fără a afecta fertilitatea femelă.

STRUCTURA GENETICĂ A DESCENDENŢEI

În partea introductivă a acestui capitol a fost subliniat faptul că reproducerea organismelor (nașterea a noi organisme asemenea lor) are loc prin două modalităţi esenţiale: reproducere *asexuată* (*agamică*) și reproducere *sexuată*.

Modalităţile de reproducere lasă asupra structurii genetice a descendenţilor o amprentă puternică și caracteristică, determinată de mecanismele ereditare diferite care guvernează reproducerea.

În acest context, trebuie menţionat faptul că pentru studiul fenomenelor ereditare sînt aplicate metode de cercetare care se bazează pe utilizarea unor organisme *uniforme genetic*. După cum se știe și ameliorarea modernă ca și producerea seminţelor și a materialului săditor, utilizează tot genitori uniformi

genetic. Această trăsătură, adică uniformitatea genetică, trebuie să caracterizeze și noile soiuri de plante și noile rase de animale, trăsătură pretinsă atît de agricultura modernă cît și de societatea actuală. De exemplu, uniformitatea soiurilor în privința fenofazelor, a mărimii semințelor sau fructelor, a calității etc., este cerută de mecanizarea completă a lucrărilor de întreținere și recoltare, de industria alimentară și comerț, precum și de consumatori (*T. Crăciun*, 1977). Toate aceste probleme au impus necesitatea studierii și relevării mecanismelor genetice ale celor două modalități principale de reproducere și a efectelor asupra structurii genetice a descendenței.

REPRODUCEREA ASEXUATĂ ȘI STRUCTURA GENETICĂ A DESCENDENȚEI

La plante, obișnuit, reproducerea asexuată constă în dezvoltarea unor indivizi noi dintr-un grup de celule (reproducere vegetativă). Se realizează prin separarea de planta originară a unei părți dintr-un organ vegetativ (butaș, marcotă, altoi din rădăcină, tulpină, frunză) sau a unui organ vegetativ (rizom, bulb, tubercul etc.), urmată de dezvoltarea unei plante întregi.

Organismele obținute pe calea înmulțirii asexuate se caracterizează printr-o mare *uniformitate și stabilitate a eredității*. Aceste trăsături sînt determinate de faptul că înmulțirea vegetativă (prin butași, stoloni, muguri etc.) *exclude formarea și unirea gameților de la cele două sexe*, deci este exclusă și segregarea descendenței. La baza înmulțirii vegetative stă *diviziunea mitotică* care asigură transmiterea constantă, ca atare, a structurii genetice, de la individul inițial la numeroase generații vegetative. Astfel, dacă celulele originare implicate în reproducere vegetativă au structura genetică *Aa*, toate generațiile celulare și organismele vor avea în totalitate tot structura *Aa* (la fel se întîmplă cînd struc-

tura este homozigotă diploidă *AA*, heterozigotă triploidă *AAa*, sau tetraploidă *AAaa* etc.).

Descendența rezultată dintr-un singur individ prin înmulțire asexuată se numește clon. Toți indivizii care alcătuiesc un clon au același genotip (fie *Aa*, fie *AA*, fie *aa*). Așa sînt *clonii* sau *sușele* de microorganisme, la unele animale nevertebrate, de pomi, de plante ornamentale, de cartof ș.a.

Clonii au o mare stabilitate genetică, atît în timp cît și în spațiu. Aceasta face, ca un clon, descoperit în România, de exemplu, soiul de viță de vie Fetească neagră, să-și păstreze genotipul timp îndelungat în podgorii variate. La fel se prezintă situația și cu alte soiuri de viță de vie, de pomi fructiferi (măr: Golden delicious, Jonathan, Cox's Orange etc., păr: Beurré Diel, Beurré d'Amanlis etc.), de crin, de lalea, de cartof ș.a.

Clonii se obțin prin *selecție clonală* din populații asexuate heterogene compuse din mai multe biotipuri sau cloni. Selecția clonală asigură extragerea dintr-o populație inițială a biotipurilor constitutive superioare. Selecția clonală se poate aplica repetat, fiind eficientă atîta timp cît în populație, există cloni valoroși, care pot fi separați și înmulțiți.

Așa cum s-a mai arătat toți indivizii unui clon sînt identici genetic, un șir de generații. Ocazional în cadrul oricărui clon pot apărea variații, determinate de mutații genice somatice și aberații numerice sau structurale cromozomale somatice. Variațiile genetice apărute în cadrul unui clon se fixează datorită înmulțirii vegetative determinînd heterogenizarea genotipică a acestuia. În aceste condiții pentru separarea variațiilor somatice din cadrul unui clon original se aplică *selecția intraclonală*.

REPRODUCEREA SEXUATĂ ȘI STRUCTURA GENETICĂ A DESCENDENȚEI

AUTOGAMIA ȘI EFECTELE EI ASUPRA DESCENDENȚEI. *Autogamia* reprezintă fenomenul de unire a doi nuclei-frați (în cadrul aceleiași celule la

protozoare, diatomee etc.), sau fuziunea gameţilor femeli şi masculi produşi în aceeaşi floare la plantele hermafrodite.

Plantele hermafrodite cu polenizare directă se numesc *autogame*. Sînt autogame orzul, mazărea, grîul, ardeiul, ovăzul, soia, orezul, inul, unele soiuri de piersic etc.

Faptul că la fecundarea autogamă participă gameţi produşi în aceeaşi floare, fiind favorizată *homozigoţia*, asigură păstrarea constantă de la o generaţie la alta a genotipului.

Descendenţa unui individ sexuat, autogam, constituie o linie.

Teoria liniei pure. Genetistul danez W. *Johannsen* (1903, 1909, 1926) pe baza a numeroase cercetări asupra plantelor autogame, a ajuns la concluzia că aceste specii, datorită autopolenizării, sînt constituite din diferite şi numeroase combinaţii de gene sau genotipuri homozigote. *Descendenţa unui singur individ absolut autogam cu compoziţie alelică homozigotă alcătuieşte o „linie pură“*. Mai multe linii pure, formează o *„populaţie“*. Variabilitatea populaţiilor autogame este determinată de mutaţii genice precum şi de recombinări genetice, datorate unor polenizări încrucişate întîmplătoare etc.

Johannsen a efectuat cercetări la fasole (*Phaseolus vulgaris*, $2n = 22$ cromozomi). El a folosit în studiu o populaţie de fasole (Princesse), la care a cîntărit boabele şi le-a grupat în clase de variaţie în funcţie de greutate. Analiza rezultatelor a arătat că în cadrul populaţiei, amplitudinea de variaţie este foarte mare (între 20 şi 91 mg/bob) datorită neuniformităţii genetice a materialului. Din acest material pe baza mărimii boabelor au fost extrase în final 9 plante diferite a căror descendenţă însămînţată şi studiată separat, cîteva generaţii, avea o amplitudine de variaţie a greutăţii boabelor caracteristică şi stabilă.

Din populaţia originară de fasole luată în studiu Johannsen a obţinut 9 *linii pure*. A fost demonstrat astfel faptul că selecţia individuală efectuată în cadrul populaţiei autogame are efect, concretizîndu-se în obţi-

nerea unor *linii pure*. Liniile pure se deosebeau între ele printr-un ansamblu de caracteristici care se transmit stabil de la o generaţie la alta. Fiind originară dintr-o plantă homozigotă, fiecare linie pură datorită homogenităţii genotipului va manifesta o amplitudine de variaţie a caracteristicilor mult mai mică comparativ cu amplitudinea de variaţie a populaţiei care este heterogenă genotipic.

În scopul verificării stabilităţii genotipului liniilor pure Johannsen a aplicat în cadrul acestora selecţia individuală a boabelor mari, respectiv mici, timp de 6 ani. Analiza greutăţii medii după 6 selecţii, atît din boabele mari cît şi din cele mici, a dus la constatarea că în acest caz, cînd selecţia s-a aplicat succesiv în cadrul liniilor pure, boabele celor şase generaţii, în parte, aveau o greutate medie aproximativ egală cu a părinţilor. Ca urmare, s-a tras concluzia că *selecţia individuală aplicată intraliniar* (în cadrul unei „linii pure“) nu este eficientă.

În concluzie, se poate afirma că cercetările lui *W. Johannsen* au relevat faptul că structura genetică a populaţiilor autogame este heterogenă, fiind alcătuită dintr-un amestec de linii pure (genotipuri homozigote) care erau stabile genetic. Aceasta face ca selecţia individuală în populaţii să fie eficientă. Totodată aceste cercetări au demonstrat că aplicarea selecţiei individuale în cadrul liniei pure nu dă rezultate din cauză că toţi descendenţii unei linii pure datorită autogamiei sînt homozigoţi şi au acelaşi genotip. Diferenţele morfofiziologice dintre indivizii unei linii pure se datoresc influenţelor condiţiilor de mediu favorabile sau nefavorabile, deci sînt fenotipice.

Variaţiile genotipice dintr-o populaţie se datoresc hibridării sexuate şi mutaţiei. Tot aşa şi linia pură se schimbă numai sub influenţa încrucişării şi mutaţiei. Se poate deduce că selecţia individuală la autogame este încununată de succes cînd se acţionează asupra unui material variabil genotipic.

Aşa cum a mai fost precizat, *W. Johannsen* are meritul că a formulat, în 1909, noţiunile de *genotip* (constituţia ereditară a unui organism sau informaţia genetică

totală a unui organism) și de *fenotip* (totalitatea caracteristicilor unui organism manifestate la un moment dat ca rezultat al interacțiunii genotipului cu mediul). Genotipul este afectat de variații ereditare (produse de mutație genică, recombinări, ploidie etc.), iar fenotipul este afectat de modificații produse sub influența mediului de viață care sînt neereditare.

ALOGAMIA ȘI EFECTELE EI ASUPRA DESCENDENȚEI. Alogamia reprezintă reproducerea naturală prin fecundare încrucișată în care gameții masculi provin de la alți indivizi. Sînt alogame cînepa, porumbul, secara, floarea soarelui, sfecla de zahăr, ceapa, morcovul, mărul, trandafirul ș.a. precum și majoritatea animalelor, inclusiv omul. Fecundarea încrucișată determină schimbarea genotipului, favorizînd *heterozigoția*. La plantele alogame, ca și la animale, constituția genetică a descendenței se schimbă în fiecare generație datorită unirii în fecundare a unor gameți diferiți din punct de vedere genetic. Ca urmare, *la organismele alogame, populațiile sînt heterogene, iar indivizii sînt heterozigoți*. Aceasta face ca de la o generație la alta, genotipul indivizilor să se schimbe, deoarece practic fiecare gamet primește de la părinți alt complex de gene. Deci, chiar cînd la fecundare participă gameți produși de același cuplu de indivizi, zigoții (inclusiv gemenii; minus gemenii uniovulari) vor avea un genotip mai mult sau mai puțin diferit.

În general, indivizii alogami (fiind heterozigoți) manifestă alelele dominante. Alelele recesive mutante, inclusiv mutantele letale și dăunătoare, nu se manifestă datorită heterozigoției. În populație se acumulează astfel alele cu efecte nefavorabile biologic sau productiv și care pot rămîne ascunse un șir de generații.

Faptul că structura genetică a populațiilor alogame se schimbă de la o generație la alta, face ca selecția individuală să aibă o eficiență scăzută.

Variația genotipului indivizilor descendenți datorită fecundării încrucișate este permanentă. În aceste condiții nu se poate realiza analiza genetică, deoarece

datele privind nivelul de dezvoltare a caracteristicilor unui individ alogam oarecare reflectă interacţiunea genotip-mediu doar pentru generaţia dată. Generaţia născută din indivizii asupra cărora s-au efectuat observaţii va fi alcătuită din indivizi avînd fiecare alt genotip, deosebit mai mult sau mai puţin de genotipurile parentale.

Efectuarea analizei genetice impune a se folosi organisme cu genotipul *uniform* şi *stabil* de la o generaţie la alta. O asemenea condiţie este îndeplinită de organismele *homozigote*. Or, homozigoţia este determinată de autogamie, iar heterozigoţia de alogamie. În aceste condiţii pentru a obţine forme pure genetic şi la organismele alogame este necesar a se înlătura fecundarea încrucişată şi a impune o fecundare între gameţi înrudiţi genetic. Obţinerea de genotipuri homozigote la organismele alogame se realizează prin aplicarea *metodei consangvinizării*.

CONSANGVINIZAREA ŞI HETEROZISUL. *Consangvinizarea* constă în unirea în procesul fecundării a unor gameţi femeli şi masculi produşi de acelaşi individ sau de indivizi înrudiţi (la specii alogame). Se împerechează astfel rude foarte apropiate, cum sînt: soră cu frate, mamă cu fiu, tată cu fiică ş.a.

Descendenţa obţinută prin consangvinizare repetată de la un singur individ (hermafrodit sau monoic alogam) sau din părinţi strîns înrudiţi se caracterizează printr-o ereditate uniformă (homozigotă) şi se numeşte *linie consangvinizată*. Deci, linia consangvinizată este un produs artificial obţinut şi menţinut prin controlul fecundării la specii alogame de plante şi animale. Indată ce la o plantă consangvină de secară, de ceapă, de porumb etc., pe stigmat nu ajunge sub control (cu ajutorul unor izolatoare) numai polen propriu, descendenţa se heterogenizează. Tot aşa şi la animale, liniile consangvine se menţin prin împerecheri controlate şi se pierd în cazul împerecherilor întîmplătoare.

Consangvinizarea, fiind opusă fecundării încrucişate care este modalitatea normală, naturală, are asupra organismelor alogame efecte dăunătoare. Un studiu

amănunțit asupra efectelor pozitive ale încrucișării și nocivității înmulțirii consangvine, este reprezentat de lucrarea *„Efectele fecundării încrucișate și ale autofecundării în regnul vegetal"* de *Ch. Darwin* (1876).

Consangvinizarea, cu toate că micșorează vitalitatea descendenței, se utilizează totuși în lucrările de genetică pentru reducerea heterozigoției și mărirea gradului de homozigoție în cadrul descendenței. La plantele alogame și la animalele superioare este posibilă obținerea pe această cale a unor linii consangvinizate cu un genotip homozigot.

Cercetările cu privire la consangvinizare și încrucișare la porumb au fost începute, în S.U.A., separat de geneticștii *E. M. East* și *S. H. Shull*. Primele descendențe consangvine au fost însămînțate în 1906. Ele au fost apoi consangvinizate succesiv și studiate. Astfel au fost observate efectele principale ale consangvinizării. Ambii au publicat separat primele rezultate în anul 1908. Ei descriu fenomenul de reducere a vigorii la descendențele consangvine, precum și fenomenul de sporire sensibilă a vitalității în cazul încrucișării controlate între două linii consangvinizate.

Fenomenul sporirii vitalității la hibrizii simpli obținuți în urma încrucișării controlate a două linii consangvinizate deosebite genetic (de exemplu, între liniile A♀×B♂, C♀×D♂ etc.), în prima generație sau F_1, a fost numit *vigoare hibridă* sau *heterozis*.

Efectele consangvinizării asupra genotipului constau în segregarea populației în genotipurile componente și mărirea gradului de homozigoție în descendența consangvină. Aceste efecte capătă o explicație genetică dacă se consideră că la consangvinizarea unui locus heterozigot participă o pereche de alele *Aa*. Datorită participării la fecundare a gameților produși de asemenea indivizi heterozigoți 100%, în prima descendență consangvină are loc segregarea în genotipurile: 25% *AA*; 50%*Aa*; 25%*aa*. În generația a doua consangvină, numai 25% din indivizi vor mai fi heterozigoți. Rezultă că, consangvinizarea ca și autogamia reduce heterozigoția în fiecare generație cu 50%.

Ca urmare, (în cazul unui locus heterozigot), în a treia generație consangvină vor mai rămîne doar 12,5% genotipuri heterozigote, iar în generația a 4-a numai 6,25%. Concomitent cu reducerea procentului de genotipuri heterozigote, consangvinizarea determină spo-

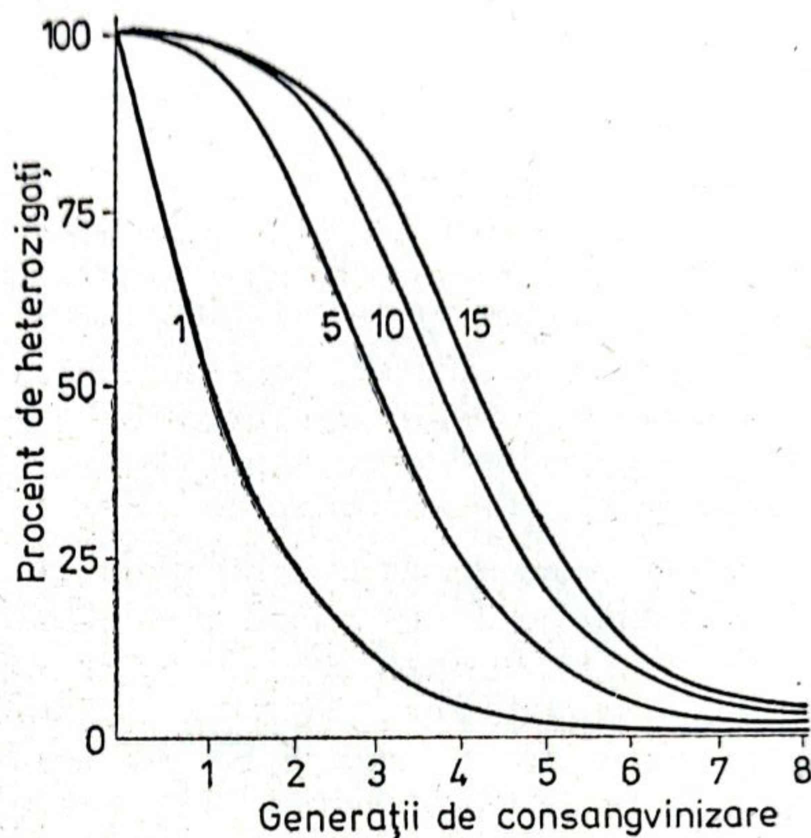


Fig. 51. Creșterea procentului de homozigoție în diferite generații de consangvinizare la forme heterozigote pentru 1, 5, 10, 15 loci independenți.

rirea frecvenței genotipurilor homozigote. În general, după 8—10 generații succesive de consangvinizare genotipul va fi practic homozigot pentru totalitatea locilor implicați (fig. 51).

După cum se știe mutantele care apar la plante și animale pot fi utile sau nu. Selecția naturală are proprietatea de a înlătura de la înmulțire mutantele dominante sau semidominante (dăunătoare sau letale), deoarece acestea se manifestă îndată ce apar. În opoziție, mutantele recesive care sînt predominante numeric deoarece în organisme heterozigote nu se manifestă,

sînt prezervate în genotip de la o generaţie la alta. Datorită acestui fapt în populaţiile alogame cu fecundare liberă există numeroase alele recesive dăunătoare şi chiar letale. Or, consangvinizarea reduce frecvenţa genotipurilor heterozigote descendente favorizînd manifestarea alelelor recesive dăunătoare, care ajung în stare homozigotă.

Consangvinizarea se realizează destul de uşor şi rapid la plantele alogame hermafrodite (secară, ceapă etc.) şi monoice bisexuate (porumb, pepene etc.), prin protejarea inflorescenţelor cu izolatori speciali, urmată de realizarea polenizării controlate numai cu polen propriu. La animale, ca şi la plantele dioice (cînepă), consangvinizarea se realizează prin alcătuirea controlată a unor cupluri între indivizi înrudiţi după schema: soră ×frate, fiică ×tată, mamă ×fiu, între veri primari, între veri secundari etc.

În cazul consangvinizării controlate la plantele alogame, homozigoţia la toţi locii se obţine după 8 generaţii de consangvinizare succesivă (se obţine un coeficient de consangvinizare de 0,996). La animale, prin încrucişarea soră ×frate (sau SIB) se realizează o homozigoţie în proporţie de circa 95% după 11 generaţii consangvine. Încrucişarea între veri primari ridică proporţia homozigoţilor la 65 la sută după 16 generaţii.

Efectele consangvinizării asupra fenotipului se manifestă prin reducerea însemnată a vitalităţii descendenţilor care afectează capacitatea de creştere, capacitatea de adaptare, capacitatea de reproducere etc.

Scăderea vitalităţii se manifestă prin micşorarea însemnată a taliei, volumului şi greutăţii individului consangvin. De asemenea, creşte sensibilitatea la condiţiile nefavorabile ale mediului şi se reduce mult capacitatea de a forma seminţe, ouă, pui etc. Toate acestea sînt caracteristici cantitative. Deci, *consangvinizarea afectează negativ manifestarea caracteristicilor cantitative*, fenomen cunoscut sub denumirea de *depresiune de consangvinizare*.

În concluzie, se poate afirma că liniile consangvinizate sînt produse artificial, se pot menține numai sub strictul control uman și se pot reproduce numai în condiții de mediu favorabile.

Importanța practică a metodei consangvinizării constă în aceea că prin înmulțirea consangvină controlată se realizează genotipuri constante din punct de vedere genetic, morfologic, fiziologic și biochimic, spre deosebire de fecundarea încrucișată care prezervă heterogenitatea și schimbă structura genetică a descendenței odată cu fiecare nouă generație. Consangvinizarea determină homozigoția și o vigoare redusă, iar fecundarea încrucișată asigură heterozigoția și o vigoare ridicată.

Liniile consangvinizate sînt utilizate în cercetările de analiză genetică datorită faptului că toți locii, indiferent că sînt reprezentați de alele dominante sau recesive, se găsesc în stare homozigotă și se manifestă. Datorită homozigoției liniile consangvinizate permit păstrarea în stoc, fiind constante de la o generație la alta, a genotipurilor organismelor alogame. Însă o importanță tot atît de mare o au liniile consangvinizate în ameliorarea plantelor și animalelor și în producerea controlată a fenomenului de vigoare hibridă sau heterozis, care se manifestă cu pregnanță în prima generație hibridă sau F_1.

Obișnuit, la animalele domestice (cum sînt mamiferele mari) pentru relevarea și conservarea unor caracteristici dorite se aplică o consangvinizare moderată. În acest scop în cadrul grupului supus consangvinizării, se limitează numărul indivizilor, fapt ce duce la o creștere a uniformității tipului respectiv, a homozigoției și la o micșorare a variabilității, a heterogenității și heterozigoției.

După cum s-a menționat, atît la plante cît și la animale, consangvinizarea crează premisele necesare ca alelele mutante recesive să ajungă în stare homozigotă și să se manifeste. Deci, consangvinizarea amplifică șansa ca alelele recesive să se manifeste fapt ce asigură eliminarea indivizilor anormali. De exemplu, la plante,

sînt eliminaţi indivizii albinotici (cu deficienţe clorofiliene), anomalie ce se evidenţiază în stare homozigotă.

Pe lîngă alelele recesive dăunătoare, există şi alele recesive care controlează caracteristici mai puţin utile din punct de vedere biologic, în schimb, prezintă o deosebită importanţă pentru om. Datorită acestor efecte, alelele recesive mutante utile, odată descoperite, în urma ajungerii în stare homozigotă prin consangvinizare, sînt folosite intens în programele de ameliorare. Aşa sînt, de exemplu, alelele recesive care afectează înălţimea, producînd forme pitice (la porumb, la sorg etc.) pretabile la mecanizarea lucrărilor de întreţinere şi de recoltare. Un alt exemplu concludent sînt alelele recesive o_2 (*opaque* 2) şi fl_2 (*fluory* 2) care au însuşirea de a sintetiza la porumb proteine endospermice cu un conţinut scăzut în zeină (proteină de calitate inferioară), dar bogate în lizină şi triptofan (aminoacizi esenţiali care ridică calitatea proteinelor). Alelele normale O_2 şi Fl_2 sînt dominante şi se găsesc în porumbul obişnuit. În prezent, în lucrările de ameliorare a porumbului se urmăreşte transferul alelelor recesive o_2 şi fl_2 în cît mai multe linii consangvinizate şi obţinerea de hibrizi interliniari la care să se manifeste aceste alele (pentru ca alelele o_2 şi fl_2 să se manifeste este necesar ca ele să fie prezente în stare homozigotă în toate liniile implicate în hibrizi, deci în ambele linii consangvinizate în cazul hibrizilor simpli (A×B), sau în toate patru liniile consangvinizate în cazul hibrizilor dubli [(A×B)×(C×D)].

La unele specii animale cum sînt găinile, curcile, animalele mici de blană, viermii de mătase ş.a., liniile consangvinizate se utilizează pentru producerea fenomenului heterozis. La taurine şi cabaline se aplică o consangvinizare limitată şi o creştere pe bază de linii înrudite.

Încrucişarea între linii homozigote şi familii consangvine (la animale) deosebite genetic determină *manifestarea heterozisului* sau *vigorii hibride în prima generaţie hibridă* (F_1). Heterozisul afectează acele carac-

teristici care au suferit o reducere în timpul consangvinizării (caracteristicile cantitative).

În general, atît la plante cît și la animale, heterozisul între linii consangvinizate este utilizat în producție pe scară largă.

Utilitatea fecundării încrucișate exprimată printr-o vitalitate sporită a fost sesizată încă de către *Ch. Darwin*, care considera că vigoarea hibrizilor rezultă din unirea în procesul fecundării a unor celule sexuale heterogene, aparținînd unor organisme neînrudite.

Un studiu sistematic privind fenomenul heterozis la plante și mai ales la porumb a fost realizat de către *E. M. East* (1908), *G. H. Shull* (1908) și *D. F. Jones* (1917) în S.U.A.

După cum a fost menționat *Shull* și *East* au obținut, în mod independent, linii consangvinizate de porumb caracterizate printr-o vitalitate redusă și care au fost apoi încrucișate controlat între ele pentru a obține sămînță hibridă. Din această sămînță s-a obținut plante hibride F_1 caracterizate printr-o vigoare extrem de mare, care depășeau nu numai vigoarea plantelor liniilor consangvinizate genitoare, ci și populațiile originare cu polenizare liberă din care au fost extrase liniile consangvinizate. În general, hibrizii interliniari F_1 pot depăși producția formelor originare în medie cu 30—50 procente (fig. 52).

Atît *Shull* cît și *East* au apreciat că pentru expresia maximă a vigorii hibride sau heterozisului este necesar ca genele să fie prezente în stare heterozigotă. Inițial, acești cercetători, pentru a indica „stimulul heterozigozității", au folosit termenul de *heterozigosis*. Mai tîrziu *Shull* (1914) a utilizat noțiunea de *heterozis* pentru a indica fenomenul de sporire a vitalității hibrizilor în F_1. Fenomenul heterozis, rezultat al stării de heterozigoție determinată de unirea unor gameți neasemănători, exercită o influență stimulatoare asupra întregii activități metabolice a organismelor hibride.

La încrucișarea liniilor consangvinizate, în procesul fecundării participă alele diferite genetic, și, ca urmare, în prima generație apar hibrizi cu o vitalitate mult

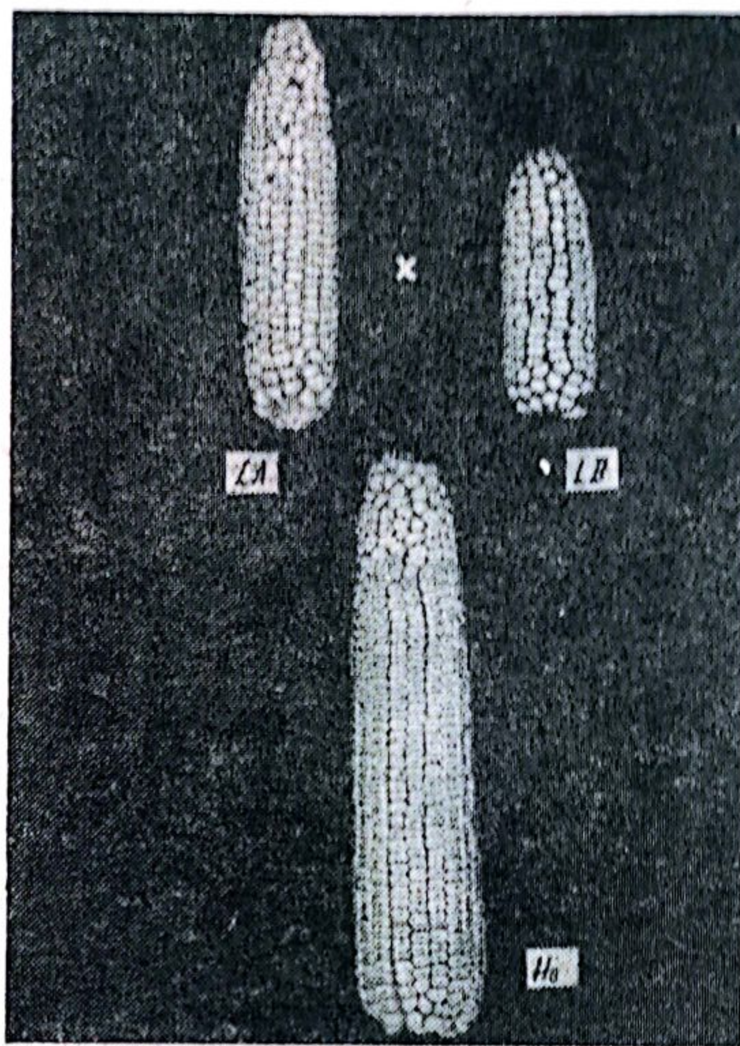


Fig. 52. Fenomenul heterozis la hibrizii simpli de porumb. Sus — știuleți din liniile consangvinizate: A și B; jos — știuletele hibridului simplu (A×B) în F_1.

superioară liniilor genitoare. În cazurile în care alelele care se unesc prin fecundare nu sînt deosebite genetic, nu se manifestă efectele pozitive ale încrucișării. Tocmai faptul că nu orice încrucișare între linii homozigote determină heterozis în F_1, impune alegerea cuplurilor de linii ce se hibridează, în scopul ca liniile supuse încrucișării să manifeste o cît mai mare *capacitate combinativă specifică*. Această însușire este exprimată de valoarea heterozisului între două linii.

Vigoare hibridă manifestă și hibrizii între linii pure la plantele autogame. Dar, la acestea, hibrizii F_1 între linii pure, manifestă mai ales heterozis reproductiv

(sporirea producției de semințe, fructe) și heterozis adaptiv și în mai mică măsură heterozis somatic (creșterea taliei, volumului, greutății).

În producție, se folosește sămînță hibridă F_1 la plante autogame cum sînt tomatele, la care prin încrucișarea unor linii se manifestă un heterozis puternic. De asemenea și la mazăre, grîu, orz etc., se manifestă fenomenul heterozis, descendența fiind superioară genitorilor în multe privințe.

În opoziție, hibrizii F_1 între linii consangvinizate la plantele alogame și animale manifestă alături de heterozis reproductiv și adaptiv și heterozis somatic. Aceasta constituie cea mai sigură dovadă că depresiunea la consangvinizare și vigoarea sporită la hibridarea liniilor sînt două laturi ale aceluiași fenomen biologic — vitalitatea, în care sînt implicate stări și interacțiuni diferite ale structurilor genetice implicate — sisteme de gene multiple și gene modificatoare — ce guvernează expresia caracteristicilor cantitative în fenomenul heterozis.

În cultură există și specii care se înmulțesc exclusiv asexuat. Aceste specii cum sînt cartoful, pomii fructiferi, plantele ornamentale etc. prezintă însă și capacitatea înmulțirii sexuate. Datorită îmbinării acestor două modalități de reproducere, există posibilitatea combinării avantajelor heterozigoției pentru mărirea vitalității cu cele ale reproducerii asexuate prin care se poate fixa heterozisul la nivelul de manifestare a generației F_1.

Fenomenul heterozis este maxim în prima generație hibridă cînd descendenții sînt heterozigoți 100%. Vigoarea se reduce în F_2 cu 50% deoarece prin împerecherea între ei, a indivizilor F_1, gradul de heterozigoție se reduce și el tot cu 50%.

AUTOINCOMPATIBILITATEA GAMEȚILOR PROPRII LA PLANTELE ALOGAME HERMAFRODITE ȘI MONOICE. Mult timp, oamenii de știință au fost preocupați să afle cauzele care fac ca la organismele alogame să se unească fără greș la fecundare gameți diferiți genetic. La majoritatea animale-

lor, dar și la plantele dioice, la care sexele sînt separate pe indivizi diferiți, unirea unor gameți heterogeni (străini) și păstrarea heterozigoției, se realizează relativ simplu, prin circulația gameților de la un individ la altul.

Plantele alogame, în majoritatea lor, produc pe același individ atît gameți femeli cît și masculi, avînd flori hermafrodite sau monoice unisexuate. Cu toate acestea, la plantele cu flori hermafrodite ca secara, sfecla de zahăr, ceapa, varza etc., sau cu flori monoice unisexuate ca porumbul, pepenele, dovleacul etc., în general, nu se realizează fecundarea între gameți proprii, datorită unor mecanisme complexe. Astfel obișnuit, la varză, sfecla de zahăr ș.a., organele sexuale femele deși se află în aceeași floare cu cele mascule, se maturizează înaintea acestora; fenomenul se numește *protoginie*, iar la porumb, florile mascule (din panicul) ajung la maturitate înaintea celor femele, fenomen denumit *protandrie*.

La speciile alogame de plante hermafrodite și monoice unisexuate există și *sisteme genetice de autoincompatibilitate* care asigură fecundarea încrucișată. Se realizează astfel prezervarea heterozigoției și inhibarea consangvinizării. Prin autopolenizarea forțată la aceste plante, în general, nu se obțin semințe. Studiul autoincompatibilității ereditare la plantele alogame a relevat faptul că fecundarea încrucișată este condiționată genetic, fiind determinată principial de două tipuri de mecanisme: *autoincompatibilitate homomorfică* și *autoincompatibilitate heteromorfică*. (Ambele mecanisme previn autofecundarea).

În cadrul autoincompatibilității *homomorfice* nu se observă diferențe morfologice între tipurile de plante sau gameți care se încrucișează. Reacția de incompatibilitate la grupul homomorfic este de două tipuri: 1. *gametofitică* și 2. *sporofitică*. Autoincompatibilitatea gametofitică constă în inhibarea creșterii tuburilor polinice, sub controlul unui locus S (*locusul autoincompatibilității*). Cînd tubul polinic are aceeași alelă ca și stilul, de exemplu, la polenizarea $S_1S_1 \times S_1S_1$ și $S_1S_2 \times S_1S_2$ fecundarea nu are loc; compatibilitatea se

manifestă la încrucișarea $S_1S_2 \times S_3S_4$. În cazul autoincompatibilității sporofitice alelele genei pentru autoincompatibilitate pot manifesta dominanță în nucleul diploid al sporofitului, fie în organele femele, fie în cele mascule. Ca urmare, cînd dominanța este completă, reacțiile polenului și stilului vor fi de un singur tip. Deci, la comportări diferite ale alelelor, de exemplu: S_1S_2 (S_1 dominant)$\times S_1S_2$ (S_2 dominant) fecundarea are loc deoarece gameții sînt de tipuri de împerechere diferite (de tipul S_1 gameții femeli și de tipul S_2 gameții masculi) în timp ce la încrucișarea S_1S_2 (S_1 dominant)$\times S_1S_2$ (S_1 *dominant*) se manifestă autoincompatibilitate.

La autoincompatibilitatea *heteromorfică* tipurile de împerechere sînt diferite morfologic, fiind afectată atît de structura florii, care poate fi dimorfică (*distilie*) și trimorfică (*tristilie*), cît și dimensiunile celulelor stilului și mărimea polenului. În același timp, în sistemul heteromorfic, comportarea polenului la fecundare este controlată sporofitic, deci stilul va inhiba tuburile polinice incompatibile (este implicat fie un locus cu două alele, fie doi sau trei loci cu cîte două alele). De exemplu, la trei loci linkage, în cazul distiliei este compatibilă încrucișarea $\frac{GSA}{gsa} \times \frac{gsa}{gsa}$, în timp ce autopolenizarea este autoincompatibilă (G — stil scurt, g — stil lung; S și s = alele ale autoincompatibilității; A — stamine lungi, a — stamine scurte).

Mecanismele genetice de autoincompatibilitate la plantele alogame previn consangvinizarea și favorizează polenizarea încrucișată care asigură prezervarea heterozigoției și deci a vitalității de la o generație la alta.

UTILIZAREA HETEROZISULUI. Dintre toate plantele alogame, porumbul a fost prima care a beneficiat de descoperirile privind consangvinizarea și heterozisul. La porumb, s-au obținut rezultate remarcabile, hibrizii interliniari simpli (A$\times$B) F_1 manifestînd heterozis puternic. Metoda producerii de sămînță hibridă comercială la porumb prin încrucișarea controlată a două linii consangvinizate a fost propusă de

Shull și *East* (în 1908) și a fost extinsă în producție de *D. F. Jones* (1917) care a elaborat metoda producerii seminței hibride duble F_1 și care constă în încrucișarea între ei a doi hibrizi simpli interliniari F_1.

Crearea hibrizilor comerciali F_1 între linii homozigote (linii consangvinizate la plantele alogame și linii pure la plantele autogame) se desfășoară în trei etape mai importante:

1 — Crearea de linii homozigote (prin polenizare cu polen propriu a plantelor selecționate). În mod obișnuit se consideră că după 5—6 generații de fecundare consangvină controlată, liniile ajung la un înalt grad de homozigoție, căpătînd o mare uniformitate, mai ales în privința caracteristicilor morfologice;

2 — Alegerea celor mai bune linii pe baza caracteristicilor pozitive manifestate în descendența hibridă F_1. Pentru relevarea capacității combinative, liniile se încrucișează în prima fază cu un genitor comun numit *tester* (cînd se află *capacitatea combinativă generală*).

În etapa a doua liniile cu capacitate combinativă generală ridicată (exprimată în primul rînd prin producția din F_1), se încrucișează între ele spre a afla liniile cu cea mai ridicată *capacitate combinativă specifică*;

3 — Încrucișarea în cîmpuri de hibridare comercială a liniilor homozigote (consangvinizate și pure). Se obține sămînță hibridă simplă ($A \times B$, $C \times D$ etc.) sau dublă [$(A \times B) \times (C \times D)$], din însămînțarea căreia în producție rezultă plantele hibride F_1, care manifestă vigoare hibridă. În producție se folosesc numai hibrizi F_1 la care fenomenul heterozis este maxim iar plantele au cea mai ridicată capacitate de producție. În prezent, în cultură se extind hibrizi produși între linii mascul sterile și linii restauratoare de fertilitate (la sorg, floarea-soarelui, sfeclă de zahăr, tutun, ceapă, tomate, varză etc.).

Heterozis manifestă și descendenții triploizi ($3x$) F_1 rezultați din încrucișarea controlată a unor genitori diploizi ($2x$) și tetraploizi ($4x$). Din cauza meiozei anormale, obișnuit, triploizii F_1 sînt sterili. Din această cauză înmulțirea lor în continuare se poate realiza

numai pe cale vegetativă. Pentru producție sămînța care va da naștere plantelor hibride triploide este produsă anual, prin încrucișare controlată a unor genitori $2x \times 4x$. De exemplu, la sfecla de zahăr, se obțin plante F_1 triploide, $3x=27$ cromozomi, care exprimă heterozis, prin încrucișare controlată (se utilizează ca plantă mamă un genotip mascul steril tetraploid). Tot sămînță hibridă F_1 triploidă se folosește și la pepenele verde ($3x=33$ cromozomi). La această specie pe lîngă avantajul sporirii producției și îmbunătățirea calității (crește conținutul de zahăr), plantele triploide F_1 se caracterizează printr-o meioză anormală. Aceasta face ca fructele formate pe asemenea plante să nu producă semințe în miez, fapt ce ridică considerabil valoarea alimentară a pepenilor verzi triploizi F_1 (sămînța hibridă F_1 trebuie deci să fie produsă anual controlat în cîmpuri de hibridare speciale).

La animale, heterozisul se manifestă printr-o greutate corporală mai mare și un ritm de creștere mai rapid, printr-o prolificitate ridicată, printr-o rezistență crescută la boli și o capacitate de adaptare sporită la condițiile de mediu. În prezent se utilizează în producție hibrizi interliniari F_1 la găini, curci, mamifere mici pentru blană, viermi de mătase etc.

HIBRIDAREA SEXUATĂ ȘI HIBRIDAREA SOMATICĂ

HIBRIDAREA SEXUATĂ

Unirea la fecundare a unor gameți deosebiți genotipic reprezintă modalitatea cea mai importantă de producere a variabilității genetice. Pentru aceasta, hibridarea sexuată este considerată ca unul din principalii factori ai evoluției viețuitoarelor. În același timp, hibridarea sexuată este una dintre metodele cele mai eficiente de inducere a unor noi combinații și recombinații de gene utilizate în ameliorarea plantelor și animalelor.

Hibridarea sexuată asigură includerea într-un singur genotip a materialului genetic provenit de la două sau mai multe forme parentale cu ereditate diferită. Producerea conștientă a unor hibrizi sexuați este asociată cu descoperirea sexelor, realizată mai întîi la animale și apoi și la plante (la care sexele au fost descrise de *R. Camerer*, în 1694).

Primul hibrid sexuat vegetal a fost menționat în 1717 și a fost obținut de horticultorul englez *Thomas Fairchild*, între două specii de garoafe, *Dianthus barbatus* × *D. caryophyllus* ($2n=30$) (*P. Diaconu*, 1974). Ulterior, studii extinse asupra hibrizilor vegetali au fost efectuate de *J. G. Kölreuter* între anii 1760—1766, la diverse specii de plante.

Biologul rus *K. A. Timiriazev* (1843—1920) pe baza analizei comportării hibrizilor sexuați a relevat că ereditatea acestora este complexă sau dublă, iar după formele ei de manifestare poate fi: mixtă, contopită și prin excludere reciprocă (*M. Manoliu* și col., 1965).

Ereditatea mixtă sau în mozaic se caracterizează prin hibrizi la care se manifestă caracteristici de la ambii părinți. De exemplu, animalele bălțate (rezultate în urma încrucișării între rase de culoare albă cu rase de culoare roșie sau neagră), iar la plante, florile pestrițe ale hibrizilor, sînt manifestări ale eredității în mozaic.

Ereditatea contopită se constată la hibrizii care manifestă caracteristici intermediare părinților. De exemplu, hibridul de lucernă *Medicago intermedia* cu flori de culoare verde, obținut prin încrucișarea lucernei cu flori albastre cu lucerna cu flori galbene (*Medicago sativa* × *M. falcata*) (ereditate intermediară, semidominantă sau de *tip Zea*).

Ereditatea cu excludere reciprocă (*ereditate mendeliană sau de tip Pisum*) se constată la hibrizii care se aseamănă în privința unor caracteristici cu unul din părinți. Unii hibrizi manifestă dominant caracteristicile mamei, alții manifestă dominant caracteristicile tatălui. Există și hibrizi micști care exteriorizează codominant caracteristicile homologe ale ambilor părinți, precum și hibrizi care exteriorizează caracteristici noi, deosebite

de ale celor doi părinţi (cazul sistemelor de gene complementare, a segregării transgresivă etc.).

Hibridarea poate fi *naturală* şi *artificială* (se realizează prin intervenţia omului). Hibridarea între organisme din aceeaşi rasă, varietate, specie, este *o hibridare intraspecifică* (*apropiată*), iar hibridarea între specii şi genuri diferite este o *hibridare interspecifică* sau *intergenerică* (*îndepărtată*).

În cazul cuplurilor interspecifice şi intergenerice, fie că nu se poate realiza hibridarea, fie că se obţine o descendenţă sterilă. Aceasta se datorează gradului de diferenţiere genetică a speciilor utilizate în hibridare.

Dificultatea principală în obţinerea de hibrizi îndepărtaţi constă în imposibilitatea realizării fecundării între gameţii produşi de indivizii îndepărtaţi din punct de vedere sistematic şi deci genetic. Această dificultate este cauzată de: constituţia anatomică diferită a organelor reproducătoare, de funcţiile fiziologice şi biochimice deosebite ale acestora, generate de structura genetică diferită a speciilor parentale etc.

Incompatibilitatea la hibridarea îndepărtată a unor specii de plante se poate manifesta prin:

1 — incapacitatea polenului de a germina pe stigmatul străin;

2 — incapacitatea tuburilor polinice de a străbate stigmatul florii materne şi de a ajunge pînă la oosferă;

3 — incapacitatea gametului mascul de a se uni (de a fecunda) cu gametul femel;

4 — lipsa de viabilitate a zigotului sau embrionului care moare imediat după formare;

5 — viabilitatea redusă a hibrizilor (embrionul supravieţuieşte dar formează un descendent neviabil).

Obişnuit, hibrizii îndepărtaţi sînt sterili (total sterili, numai parţial sterili, sau mascul sterili).

Cauza principală a sterilităţii hibrizilor îndepărtaţi este determinată de lipsa de homologie a cromozomilor de la speciile hibridate şi de numărul diferit de cromozomi din genomul genitorilor. Aceste deosebiri provoacă în meioza hibrizilor îndepărtaţi o serie de anomalii determinate de lipsa de homologie care împiedică conjugarea şi disjuncţia regulată a cromozomilor în gameţi.

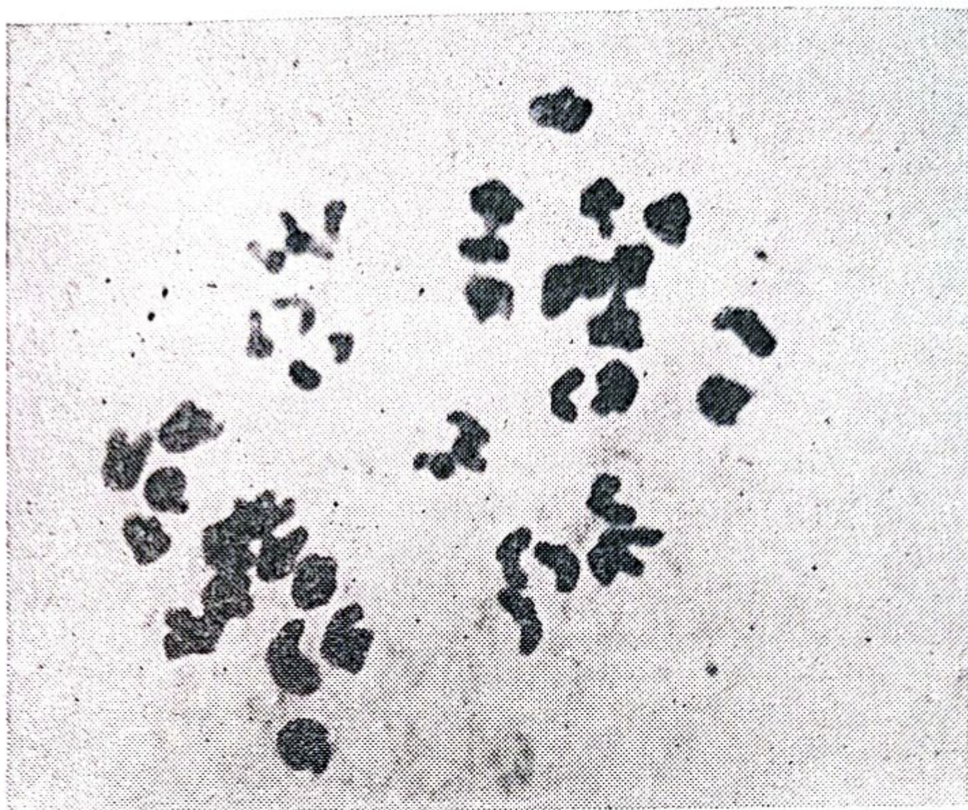


Fig. 53. Diviziune meiotică în meta-anafaza I la hibridul interspecific *Triticum aestivum* ($2n=42$, $n=21$) × *T. durum* ($2n=28$, $n=14$). Se observă o repartiție neechilibrată a cromozomilor spre cei doi poli și cromozomi retardatari.

Anomaliile determinate de diferențele în numărul de cromozomi apar în mod obișnuit la descendenții rezultați din hibridarea unor specii diploide × tetraploide, între specii diploide × hexaploide care aparțin aceluiași gen, între diferite specii ce aparțin altor genuri (fig. 53) etc.

Obținerea de semințe viabile la hibrizii îndepărtați este strîns corelată cu interacțiunile dintre embrion și țesutul matern, dintre embrion și endosperm ș.a. O serie de dificultăți în calea obținerii semințelor la hibridarea interspecifică sînt cauzate de diferențele între numărul de cromozomi din embrionul diploid și endospermul triploid (fig. 54).

O altă cauză a sterilității poate fi reprezentată de fenomenul de incompatibilitate genică. De exemplu, existența unor gene care controlează asinapsia (care împiedică împerecherea cromozomilor în meioză) provoacă dereglarea meiozei. În alte cazuri, cu toate că

în meioză se constată o împerechere a cromozomilor, totuși mulți hibrizi prezintă o sterilitate pronunțată. Aceasta este controlată, fie de anumite gene, fie de unele schimbări structurale cromozomale. Existența în cromozomi a unor diferențe structurale (determinate de dislocații sau schimbări structurale cromozomale), este dificil a se detecta în meioză cînd ele nu afectează împerecherea cromozomilor. Cînd dislocațiile afectează mici segmente de cromozomi există porțiuni homologe și nehomologe ale cromozomilor care nu inhibă conjugarea dar interferă negativ producerea gameților. De aici se poate desprinde concluzia că sterilitatea hibrizilor este influențată mai mult de numărul dislocațiilor decît de mărimea lor (*P. Raicu* și col., 1975).

Uneori hibridarea îndepărtată se realizează mai greu din cauza unor bariere extranucleare care pot determina inhibarea funcționării genomului străin în citoplasma ovulului. Tot citoplasma poate determina deficiențe clorofiliene, fapt ce produce lipsa de viabilitate a plantulelor hibride. De exemplu, la hibrizii între diferite specii de *Oenothera*, combinațiile cu deficiențe clorofiliene sînt neviabile.

Sterilitatea hibrizilor îndepărtați mai poate fi cauzată și de inhibarea biosintezei proteice, sau de sinteza unor enzime nefuncționale (s-a stabilit că la hibrizii îndepărtați F_1, în aproximativ jumătate din celulele mamă ale gameților se găsesc enzime improprii, care inhibă dezvoltarea și funcționalitatea gameților). Incompatibilitatea funcțională a unor lanțuri peptidice care intră în structura unor enzime poate constitui o altă cauză a sterilității hibrizilor îndepărtați. Se pare că la hibrizii îndepărtați supraviețuirea este condiționată de realizarea unor sisteme de gene cu acțiune complementară, pentru a asigura biosinteza unor enzime funcționale caracteristice pentru noul genotip.

Cercetările asupra hibrizilor îndepărtați au stabilit că, în general, fertilitatea este foarte variabilă, de la o fertilitate deplină la o sterilitate completă. Reiese că se pot obține hibrizi cu o meioză normală care au capacitatea de a produce gameți normali și hibrizi la care meioza este anormală și, ca urmare, nu se formează





Fig. 54. Diviziune reducțională la hibridul interspecific *Nicotiana tabacum* ($2n=48$, $n=24$) $\times$ *N. glutinosa* ($2n=24$, $n=12$). a) anafază I cu cromozomi retardatari și un fragment de punte cromatică; b) metafază II cu cromozomi rămași în afara plăcii metafizice;





c) anafază II cu cromozomi retardatari; d) telofază II cu micronuclei proveniţi din cromozomi retardatari.

gameţi funcţionali. S-a observat că sterilitatea hibrizilor îndepărtaţi poate fi diminuată sau chiar înlăturată prin dublarea numărului de cromozomi, adică prin *poliploidizare* şi obţinerea *alopoliploizilor* (care sînt în frecvente cazuri hibrizi dubli diploizi şi anume $2x+2x=4x$). Fertilitatea hibrizilor îndepărtaţi determinată de poliploidie asigură naşterea *amfiploizilor*. Hibridarea îndepărtată urmată de dublarea numărului de cromozomi la hibrizi şi obţinerea alopoliploizilor fertili, este una dintre metodele de bază de includere într-un genotip nou a genelor de la unele specii sălbatice şi a genelor de la speciile cultivate (fig. 55 şi fig. 56).

Dublarea numărului de cromozomi la hibrizii îndepărtaţi se realizează experimental prin tratamentul cu soluţii de colchicină a seminţelor sau plantulelor hibride F_1. Colchicina sau alte substanţe similare inhibă formarea fusului de diviziune şi ca urmare nu mai are loc separarea cromozomilor. Datorită acestui fapt rezultă o dublare a numărului de cromozomi şi formarea unor sectoare alotetraploide în care meioza şi formarea gameţilor se desfăşoară normal. Este posibil ca la speciile care urmează a se hibrida să se obţină forme *autotetraploide* prin tratamente cu colchicină după care se efectuează hibridarea îndepărtată.

Efectul cel mai important al dublării numărului de cromozomi la hibrizii îndepărtaţi constă în crearea premiselor necesare ca diviziunea reducţională să se desfăşoare normal.

Aşa cum s-a precizat, obişnuit, hibrizii interspecifici şi intergenerici F_1 sînt sterili din cauza unei homologii reduse (homeologie) sau a lipsei homologiei dintre cromozomi. Lipsa de homologie inhibă conjugarea fapt ce face ca cromozomii să rămînă în starea de univalenţi şi să se repartizeze neechilibrat spre cei doi poli de diviziune. Desfăşurarea meiozei depinde tocmai de gradul de homologie dintre genomii speciilor parentale. Cînd la o hibridare participă specii cu genomi complet diferiţi (de exemplu AA şi BB), în meioza hibrizilor F_1, cromozomii proveniţi din genomii A şi B nu conjugă, şi ca urmare planta hibridă va fi

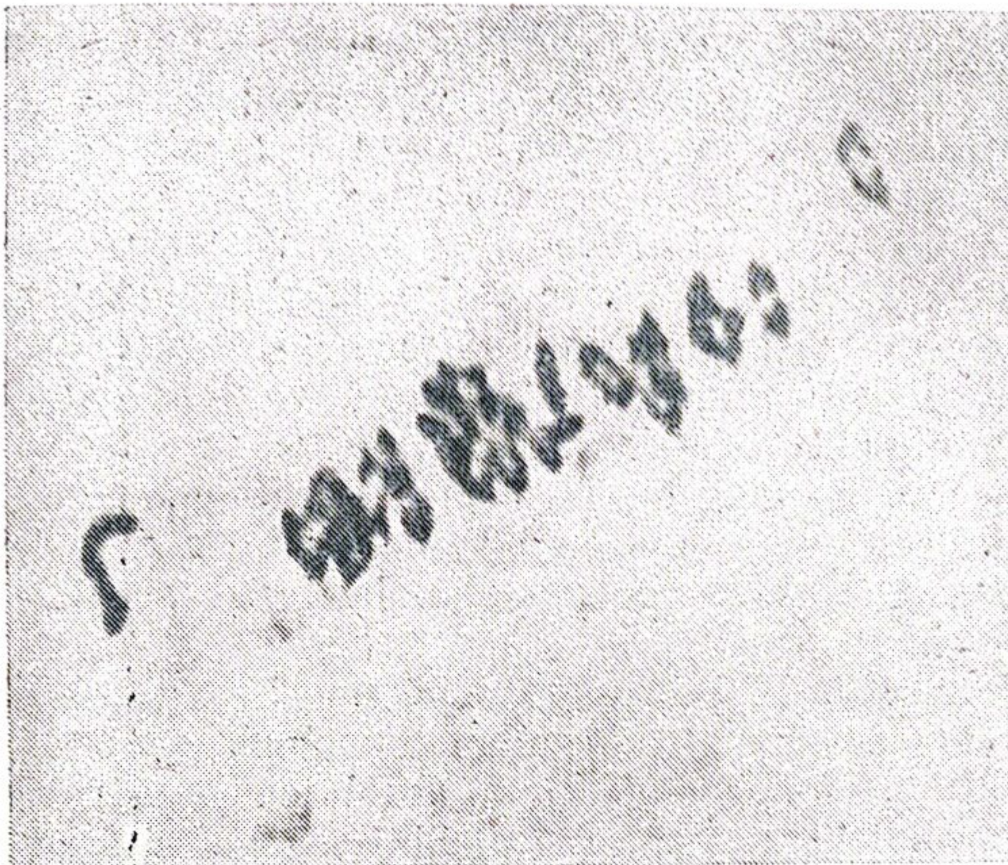


Fig. 55. Diviziune meiotică în profaza I — diakineză la allohexaploidul natural *T. aestivum* ($2n = 6x = 42$ cromozomi). Se observă un univalent.

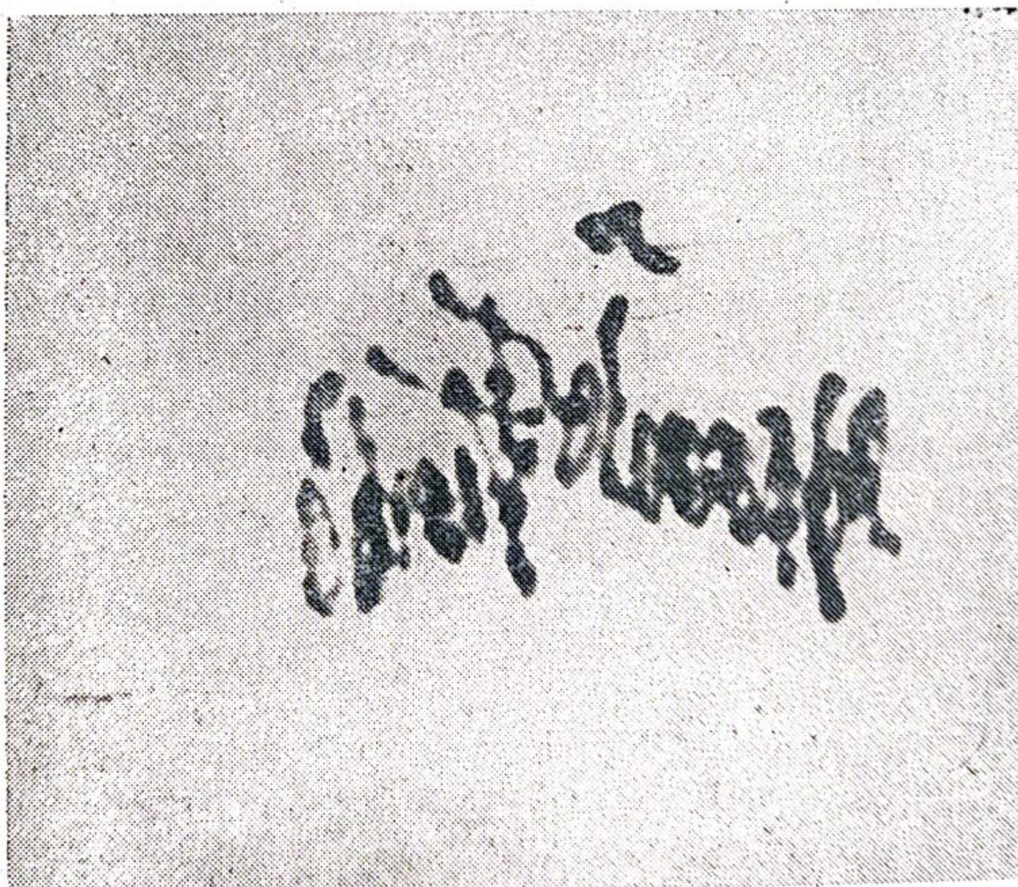


Fig. 56. Diviziune celulară meiotică în metafaza I la allooctoploidul *Triticale* ($2n = 8x = 56$ cromozomi). Dublarea numărului de cromozomi regularizează cariokineza.

sterilă. Dublarea numărului de cromozomi prin poliploidie are tocmai rolul de a crea perechi de cromozomi homologi care pot să conjuge, să se separe în meioză și să se unească în procesul fecundării.

În cazul hibridării speciilor AA×BB (care produc gameți A, respectiv B), se obține hibridul interspecific AB care este steril. Prin dublarea cromozomilor, respectiv a genomilor, se obține un alopoliploid fertil (un amfiploid) cu structura AABB, la care meioza se desfășoară normal, ca și la speciile diploide. (La amfiploizi conjugă cromozomii homologi între ei $A+A$ și $B+B$). Un asemenea alopoliploid fertil se numește *amfiploid genomic*.

Alteori, la hibridare participă specii cu genomi parțial (homeologi) sau complet homologi, aceasta este *amfiploidia segmentală*. După dublarea numărului de cromozomi în meioză, amfiploidul segmental formează univalenți și multivalenți (univalenți, trivalenți și tetravalenți). Ca urmare, migrarea cromozomilor spre polii celulei se poate face neechilibrat și de aceea unii gameți prezintă un număr variabil de cromozomi, fiind sterili. În fapt, acționează o barieră genetică care prezervă stabilitatea speciilor.

În natură, în anumite circumstanțe, are loc hibridarea sexuată îndepărtată interspecifică și chiar intergenerică. Datorită sterilității, mulți hibrizi se pierd, unii se pot înmulți datorită unei homeologii parțiale care asigură combinarea și recombinarea genetică, iar alții în urma unui proces de diploidizare spontană pot pune bazele unor specii noi. Așa sînt alopoliploizii tipici: *Triticum aestivum*, *Gossypium hirsutum*, *Nicotiana tabacum*, *Triticum durum*, *Avena barbata*, *Avena sativa*, *Prunus domestica*, *Aegilops ovata*, *Brassica napus*, *Dahlia variabilis* etc.

Hibridarea îndepărtată urmată de poliploidizare a condiționat apariția de specii care formează în cadrul unor genuri serii de specii amfiploide. De exemplu, din genul *Triticum*, din care face parte grîul comun, plantă de mare importanță economică, fac parte specii diploide (*T. monococcum*, $2x=14$), tetraploide (*T. durum*, $4x=28$) și hexaploide (*T. aestivum*, $6x=42$). Formele

diploide au genomul AA, cele tetraploide AABB, iar cele hexaploide AABBDD. S-a demonstrat experimental că genomul A provine de la formele diploide de grîu *T. boeoticum* sau *T. monococcum*, genomul B provine de la *Aegilops speltoides*, iar genomul D provine de la *Ae. squarrosa*. Prin încrucișarea formelor diploide de grîu, de exemplu, *T. monococcum* ($2x = 14$), cu *Ae. speltoides* ($2x = 14$), s-au obținut alotetraploizi de grîu ($4x=28$), iar prin încrucișarea acestora cu *Ae. squarrosa* ($2x=14$), s-au realizat alohexaploizi de grîu ($6x=42$). Specia *T. aestivum*, cea mai extinsă în cultură pe glob, este un amfiploid la formarea căruia au participat 3 specii diferite. *R. Riley* (1960) a stabilit experimental că *T. aestivum* a apărut ca aloploid segmental, dar că sub influența evoluției a devenit aloploid genomic.

Hibridarea interspecifică precum și fenomenele de recombinare și mutație, constituie surse însemnate de variație genotipică a speciilor, asigurîndu-le acestora posibilități mai mari de supraviețuire și adaptare la condiții de mediu variabile. La plante, hibridarea interspecifică a constituit încă de la începutul secolului XX un mijloc eficace de rezolvare a unor probleme deosebit de importante atît din punct de vedere teoretic cît și practic.

La început, hibridările îndepărtate au fost mai mult folosite în scopul stabilirii taxonomiei contribuind la elucidarea unor probleme filogenetice dificile privind natura și prezența diferențierilor intra și interspecifice la multe genuri de plante cultivate. Ulterior, hibridările interspecifice au fost utilizate într-o măsură tot mai mare în lucrările de ameliorare a plantelor. Utilizarea hibridării îndepărtate într-o serie de țări, U.R.S.S., Suedia, S.U.A., Japonia, Franța, R. S. România etc. a asigurat includerea în materialul inițial de ameliorare a unor noi surse de plasmă germinativă care a permis o creștere cantitativă și calitativă a informației genetice, o acumulare de diferențieri cromozomice etc. Această plasmă germinativă îmbogățită, diversificată și ameliorată prin diverse metode, a asigurat obținerea unor genotipuri cu combinații genice utile, pe baza cărora au

fost create numeroase soiuri valoroase, la diverse specii de plante cultivate.

La animale, hibridarea îndepărtată se realizează cu mai multă dificultate decît la plante, hibrizii fiind obişnuit neviabili, iar dacă au viabilitate sînt total sau parţial, sterili. Cu toate dificultăţile întîmpinate s-a reuşit totuşi să se obţină diverşi hibrizi îndepărtaţi, dintre care unii prezintă chiar importanţă economică.

Dintre hibrizii interspecifici la animale, sînt cunoscuţi catîrul şi bardoul rezultaţi din încrucişarea reciprocă interspecifică *Equus caballus* × *E. asinus*, zebroidul rezultat din hibridarea cal×zebră ş.a.

În unele cazuri, hibrizii dintre speciile aceluiaşi gen sînt fecunzi, datorită homologiei parţiale şi afinităţilor filogenetice. De exemplu, hibridul între *Bos taurus* şi *Bos zebu* este fecund, iar din hibridarea între *Bos taurus* şi *Bos bison*, rezultă descendenţi masculi parţial fecunzi şi descendenţi femele fecunde. În genul *Ovis* au fost realizaţi diverşi hibrizi cu fecunditate normală; aceştia au fost produşi între specia domestică de oaie, *Ovis aries* şi specii sălbatice: *Ovis mussimon*, *O. ammon* ş.a.

Au fost, de asemenea, obţinuţi hibrizi fecunzi între specii de suine (de porc), între specii de păsări (dar hibrizii sînt obişnuit sterili) ş.a.

HIBRIDAREA SOMATICĂ

Hibridarea pe cale somatică reprezintă una din cele mai importante realizări ale geneticii contemporane. Acest tip de hibridare se bazează pe fuziunea nucleilor celulelor somatice provenite de la diferite specii, care pot fi foarte îndepărtate din punct de vedere filogenetic, fără participarea celulelor sexuale, adică a gameţilor.

HIBRIDAREA SOMATICĂ LA PLANTE. Hibridarea parasexuată are loc între celule somatice de tipul *protoplaştilor*. În prezent, pentru obţinerea protoplaştilor celulelor vegetale se utilizează procedee de izolare

enzimatică. Astfel, datorită progreselor tehnicii de obținere a protoplaștilor prin tartamente enzimatice, s-a realizat regenerarea plantelor plecînd de la protoplaști, la un număr mare de genuri de plante cum sînt: *Nicotiana*, *Petunia*, *Daucus*, *Bromus*, *Glycine* (soia), *Zea*, *Vicia*, *Pisum*, *Hordeum* etc.

În cadrul hibridării somatice la plante au fost descrise două tipuri de fuziune:

1. *fuziunea spontană*, care are loc în timpul preparării protoplaștilor și se produce între protoplaștii proveniți de la celule învecinate ale unui țesut. Astfel, celule apropiate rămîn legate între ele prin plasmodesme care la tratament enzimatic rămîn intacte. *G. P. Bourgin* și colaboratorii săi (1972), tratînd cu celulaze protoplaștii de tutun de tip clorofilian și de tip albinotic au constatat că toate fuziunile obținute în aceste condiții, erau fie între protoplaștii de tip clorofilian, fie între protoplaștii de tip albinotic. Se consideră că acest tip de fuziune poate servi ca material pentru studiul celulelor polinucleate și pentru studiul proceselor de fuziune nucleară;

2. *fuziunea indusă*, care se realizează între protoplaștii izolați deja, aparținînd aceleiași specii (intraspecifică) unor specii (interspecifică), genuri (intergenerică) sau familii diferite. S-a constatat că nucleii a doi protoplaști diferiți nu este obligatoriu a fuziona, și ca urmare se pot obține *cibrizi (hibrizi citoplasmici)* și de asemenea *hibrizi somatici* cu unii cromozomi pierduți. *E. C. Cocking* (1972, 1974) a indus fuziunea de protoplaști cu soluție de nitrat de sodiu 0,25 M. Mecanismul acțiunii acestei substanțe asupra fuziunii de protoplaști este puțin cunoscut. Probabil că au loc în citoplasmă schimburi de natură electrostatică care ar favoriza fuziunea protoplaștilor.

În anul 1972, *P. S. Carlson* și colaboratorii săi, utilizînd această tehnică au obținut hibrizi somatici între două specii de *Nicotiana* și anume *N. glauca* ($2n=24$) și *N. langsdorffii* ($2n=18$). Protoplaștii fuzionați au fost trecuți pe un mediu de regenerare care permite creșterea numai a celulelor hibride ce reunesc numerele somatice ale celor două specii și anume: $2n+2n=4n$. După

aproape 6 săptămîni de cultură s-au recoltat porţiuni de calus care au fost trecute pe un mediu nesuplimentat cu hormoni. Prin această metodă s-a realizat o a 2-a selecţie a hibrizilor somatici, deoarece speciile parentale nu pot creşte pe un mediu fără hormoni, în timp ce ţesuturile dublu-somatice cresc bine pe mediu fără hormoni. Un hibrid asemănător, amfiploidizat, a fost obţinut şi prin hibridare sexuată. Acest amfiploid este cunoscut pentru capacitatea lui de a genera spontan tumori. Această însuşire prezentă şi la hibridul realizat pe cale somatică, permite dezvoltarea „in vitro", în absenţa substanţelor de creştere. Numărul de cromozomi somatici la acest hibrid este de 42 (24+ +18), identic cu cel găsit şi la amfiploidul obţinut prin hibridare sexuată.

În 1974, *G. Pelletier* şi colaboratorii săi, utilizînd poli-etilen-glicol (P.E.G.) au obţinut fuziuni între protoplaştii izolaţi din mezofil de tutun androsteril şi din mezofil de tutun fertil.

Prin utilizarea P.E.G. şi calciu s-au obţinut, de asemenea, hibrizi somatici între *Vicia* şi *Pisum*, între *Glycine* şi *Hordeum*. (*F. T. Kao* şi *M. R. Michaylur*, 1974). Unii cercetători afirmă că se va putea realiza fuziunea de protoplaşti prin iradierea genomilor celulelor ce se hibridează (*G. Melchers* şi *G. Labib*, 1974).

Fuziunea de protoplaşti, indiferent de metodele utilizate pentru inducerea ei, rămîne un mijloc eficace de obţinere a hibrizilor parasexuali. Această realizare (a fuziunii de protoplaşti) va permite încrucişarea unor specii îndepărtate filogenetic, iar hibrizii obţinuţi vor putea fi folosiţi în ameliorarea plantelor.

HIBRIDAREA SOMATICĂ LA ANIMALE. Pînă în prezent s-a reuşit hibridarea somatică şi la animale dar nu s-au găsit încă condiţii de creştere şi dezvoltare pentru celulele hibride care să permită regenerarea unui organism întreg. Celulele hibride la animale realizează un număr oarecare de diviziuni mitotice şi rămîn în stadiul de cîteva celule.

Fuziunea celulelor somatice la animale a dus la obţinerea unor celule hibride al căror nucleu conţine

materialul genetic al celulelor somatice parentale. Fuzionarea celulelor somatice de origine animală la nivel intra și interspecific s-a realizat prin utilizarea metodei culturilor mixte de celule și a unor viruși inactivați. Astfel, s-au obținut celule hibride somatice între hamsterul auriu și șoarece, între hamsterul chinezesc și șoarece, între om și țînțar, între șoarece și găină, vacă și nurcă ș.a. Celulele hibride se caracterizează prin instabilitate genetică.

În 1976, în 3 laboratoare din lume, din S.U.A., Marea Britanie și R. P. Ungaria, s-a reușit hibridarea celulelor somatice provenite de la om și plante.

Cercetătorii de la Laboratorul Național de la Brookhaven de lîngă New York (1976) au realizat fuziunea celulelor tumorale He—La, de origine umană, cu celulele unei plante de tutun. Celulele hibride au suferit cîteva diviziuni după care procesul de diviziune mitotică s-a oprit. În experiență s-au utilizat celule de la hibridul de tutun *Nicotiana glauca* × *N. langsdorffii*, care așa cum s-a precizat, are capacitatea de a genera tumori. De asemenea, s-a avut în vedere mărimea acestor celule ca fiind corespunzătoare pentru a recepționa nucleii celulelor umane He—La, celule predispuse în egală măsură unei intense înmulțiri.

În experiență, s-au obținut, inițial, protoplaști de la plante de tutun care s-au păstrat într-un mediu de cultură special. Paralel, celulele umane He—La au fost centrifugate și tratate pentru a se obține o concentrație de cîteva milioane de celule pe milimetru.

Fuziunea protoplaștilor de tutun și celulelor umane s-a realizat într-un mediu ce conținea glicol de polietilenă, substanță ce favorizează fuziunea. În aceste condiții, celulele umane, mai mici, venind în contact cu celule vegetale, s-au alipit de acestea. Ulterior, într-un interval de timp de la cîteva ore și pînă la a șasea zi, s-a observat microscopic că nuclei din celule umane pătrunseseră în interiorul celulelor vegetale.

Fuziunea a afectat aproximativ 2% din totalul celulelor puse în contact. Prin tehnici de colorare, marcare chimică și radioactivă s-a putut observa la microscop că nucleul celulei umane s-a integrat complet în celula

plantei de tutun. Totodată au fost observate și diviziuni aparent normale ale nucleilor celulelor umane în celulele de tutun.

Însemnătatea acestei realizări este deosebită atît sub aspect științific cît și practic. Se vor putea astfel aprofunda studiul privind mecanismele intime de reglaj la nivel citoplasmic. De asemenea, prin introducerea genelor animale în culturile de celule vegetale se creează posibilitatea ameliorării echilibrului nutrițional proteic etc.

Perfecționarea tehnicilor de obținere a unor protoplaști individuali și a condițiilor de mediu care să favorizeze inițierea proliferării celulare, precum și descoperirea unor factori stabilizatori ai structurilor noilor cariotipuri, va ridica metoda hibridării parasexuale la un nivel de eficiență pe care hibridarea sexuată nu-l va putea atinge niciodată. Pentru ameliorarea plantelor și a animalelor, utilizarea metodei hibridării parasexuale va reprezenta o cucerire de o valoare inestimabilă (*T. Crăciun*, 1977).

INDICAȚII PRACTICE CU PRIVIRE LA CERCETAREA DISTRIBUȚIEI GENELOR LA DESCENDENȚI

CUM SE OBȚINE UN MONOHIBRID ȘI CUM SEGREGA ÎN F_2

Monohibridul este rezultatul hibridării unor genitori homozigoți ce se deosebesc printr-o singură pereche de caracteristici.

De exemplu, dacă se încrucișează un soi de tomate cu *tulpina înaltă* (*II*) cu un alt soi cu *tulpina pitică* (*ii*), în F_1 toate plantele vor avea *tulpina înaltă* (*Ii*).

În vederea încrucișării, din florile plantelor alese ca părinte matern se înlătură anterele (se castrează) înainte ca polenul să ajungă la maturitate. Apoi, din florile plantelor alese ca părinte patern se recoltează polen și se pune pe stigmatul florilor din care anterele au fost eliminate. În acest fel se obțin fructe și respec-

tiv semințe hibride din care vor rezulta plantele F_1, înalte și uniforme (heterozigote *Ii*). Aceste plante sînt monohibride, deoarece formele parentale se deosebesc numai printr-o singură pereche de caracteristici și anume în privința taliei tulpinii care este fie înaltă, fie pitică.

Din plantele F_1 în urma autopolenizării, rezultă o descendență F_2 heterogenă genotipic și fenotipic.

Astfel, generația F_2 segregă genotipic în raportul 1 : 2 : 1 (1/4 *II* : 2/4 *Ii* : 1/4 *ii*), iar fenotipic în raportul 3 : 1(3/4 tulpină înaltă cu genotipurile 1/4 *II* și 2/4 *Ii* și 1/4 tulpină pitică cu genotipul homozigot recesiv *ii*).

CUM SE OBȚINE UN DIHIBRID ȘI UN POLIHIBRID ȘI CUM SEGREGĂ ÎN F_2

Dihibridul se obține din încrucișarea unor genitori homozigoți care se deosebesc în privința a două perechi de caracteristici. Dacă se încrucișează un soi de tomate cu *tulpina înaltă, frunza crestată* (*IICC*), cu un soi cu *tulpina pitică, frunza necrestată* (*iicc*), în F_1 descendența hibridă va avea în totalitate tulpina înaltă și frunza crestată (*IiCc*). Apoi, F_1 se înmulțește prin autopolenizare. Datorită faptului că F_1 a produs patru grupe de gameți femeli și masculi în proporții egale și anume *IC*, *Ic*, *iC* și *ic*, în F_2 are loc segregarea genotipică și fenotipică.

Segregarea și raporturile între genotipuri și fenotipuri în F_2 sînt:

Genotipuri	Fenotipuri
1/16 IICC 2/16 IICc 2/16 IiCC 4/16 IiCc	9/16 Înaltă, Crestată
1/16 IIcc 2/16 Iicc	3/16 Înaltă, Necrestată
1/16 iiCC 2/16 iiCc	3/16 Pitică, Crestată
1/16 iicc	1/16 Pitică, Necrestată.

Analiza relevă faptul că în F_2 se formează 16 combinații de gene care segregă în 9 genotipuri în raportul 4 : 2 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 : 1, și patru grupe fenotipice într-un raport de 9 : 3 : 3 : 1. În F_2, în afară de combinațiile de gene reprezentînd tipurile parentale (*I.C.* și *iicc*) s-au obținut și două tipuri în care a avut loc o combinare nouă a genelor (*I.cc* și *iiC.*) și caracteristicilor (tulpină înaltă, frunză necrestată și tulpină pitică, frunză crestată). Deci, se poate considera că dihibridul nu reprezintă altceva decît doi monohibrizi, care acționează independent.

În cazul *trihibridării* care afectează trei perechi de gene alele, de exemplu, cînd se încrucișează un soi de tomate cu *tulpină înaltă, frunză crestată, fructul roșu* (*IICCRR* — alele dominante) cu un alt soi cu *tulpina pitică, frunza necrestată, fructul galben* (*iiccrr* — alele recesive), în F_1, trihibridul manifestă caracteristicile dominante (înaltă, crestată, roșu). Plantele heterozigote F_1 — *IiCcRr* produc opt tipuri de gameți, masculi și femeli, din fecundarea cărora se formează în F_2, 64 de combinații de gene grupate în 27 genotipuri care determină 8 clase fenotipice și anume:

27/64 înaltă, crestate, roșii (*I.C.R.*);
9/64 înaltă, crestată, galben (*I.C.rr*);
9/64 înaltă, necrestată, roșu (*I.ccR.*);
9/64 pitică, crestată, roșu (*iiC.R.*);
3/64 înaltă, necrestată, galben (*I.ccrr*);
3/64 pitică, crestată, galben (*iiC.rr*);
3/64 pitică, necrestată, roșu (*iiccR.*);
1/64 pitică, necrestată, galben (*iiccrr*).

CUM SE DETERMINĂ GRUPELE SANGVINE

În celulele roșii ale sîngelui uman (în eritrocite) se găsesc doi antigeni indicați A și B. Celulele pot conține unul sau altul sau ambii antigeni sau nici unul dintre ei. Aceasta face posibilie patru combinații între

antigeni, ceea ce determină cele patru grupe de sînge (O, A, B și AB). Serul sangvin conține întotdeauna anticorpii care corespund antigenilor lipsă din celulele sangvine. De exemplu, dacă celulele sangvine ale unui om conțin antigenul A, plasma va conține anticorpul care va reacționa cu B (anti B). Persoanele fără antigeni (grupa O) posedă anticorpi A și B. Persoanele cu grupa AB nu vor poseda nici un tip de anticorpi.

În laboratoare specializate în vederea relevării grupelor sangvine se recoltează o picătură de sînge și se amestecă separat cu cele 4 tipuri de seruri. Din amestecarea diferitelor seruri și celule roșii, rezultă următoarele:

Ser	Globule roșii			
	O	A	B	AB
O	—	+	+	+
A	—	—	+	+
B	—	+	—	+
AB	—	—	—	—

Semnul plus (+) indică aglutinarea globulelor roșii, iar minus (—) absența aglutinării.

Globulele roșii conțin substanțe aglutinabile, iar serul aglutinante. Substanțe aglutinabile, aglutinogen sau antigen — sînt A și B, iar cele aglutinante, aglutinine sau anticorpi, anti A și anti B.

Grupe	*Antigen*	*Anticorp*
O	nici unul	anti A și anti B
A	A	anti B
B	B	anti A
AB	A și B	nici unul.

Cînd o persoană are grupa A nu poate avea și anti A.

Iată de ce transfuziile pot da loc la accidente grave. Dacă se transfuzează sînge din grupa A unei persoane care are, de exemplu, grupa B, va avea loc o aglutinare datorită anticorpilor anti — A. Sîngele din grupa O poate fi transfuzat oricărui individ uman;

o persoană O este donor universal pentru faptul că nu are aglutinogen, iar o persoană AB este primitor universal, deoarece nu are aglutinine sau anticorpi.

CUM SE DETECTEAZĂ FENOMENELE DE LINKAGE ȘI CROSSING OVER

Fenomenele de linkage și crossing over se evidențiază prin testarea (cu un tester recesiv) heterozigotului F_1.

De exemplu, la porumb, cercetările au confirmat existența unui număr de zece grupe linkage, grupe din care fac parte numeroase gene. Manifestarea fenomenului de crossing over se observă la încrucișarea: *boabe colorate cu partea superioară a bobului rotundă (tip indurata)* × *bob necolorat (alb)* și *zbîrcit (tip dentata)*. Culoarea stratului aleuronic este dată de alela dominantă *C*, iar lipsa culorii de alela *c*; forma normală a endospermului sau cu partea superioară rotundă este dată de alela dominantă *S*, iar tipul dentata de alela *s*, deci încrucișarea poate fi simbolizată: $(CS)(CS) \times \times (cs)(cs)$ sau $\frac{CS}{CS} \times \frac{cs}{cs}$. În descendența F_1 se manifestă alelele dominante deci *colorat* și *rotund* $\left(\frac{CS}{cs}\right)$.

Heterozigotul F_1 este testat cu părintele dublu recesiv $(cs)(cs)$ obținîndu-se în descendența testcross următoarele fenotipuri: *colorat, rotund* $(CS)(cs)$, *fără culoare, zbîrcit* $(cs)(cs)$, *colorat, zbîrcit* $(Cs)(cs)$, *fără culoare, rotund* $(cS)(cs)$.

Datorită faptului că genele (CS) și (cs) fac parte din același grup linkage, ele au avut tendința de a intra împreună în gameți și nu s-au combinat independent. Ca urmare, combinațiile parentale, fără crossing overe: *bob colorat, rotund* și *bob fără culoare, zbîrcit* au o frecvență foarte mare (96,4%). Crossing overul sau ruperea cromatidelor homologe nesurori și schimbul reciproc de segmente cromatidice determină recombinarea gene-

lor (*Cs*) și (*cS*), ceea ce duce la apariția tipurilor *bob colorat, zbîrcit* și *bob fără culoare, rotund*, într-o proporție de 3,6% crossovere, valoare care indică distanța relativă dintre locii *c* și *s*.

Pentru a verifica rezultatele obținute în această experiență se încrucișează: *bob alb, rotund* (*cS*)(*cS*) × *bob colorat, zbîrcit* (*Cs*)(*Cs*). Și în acest caz, în F_1 au dominat caracteristicile: *bob colorat, rotund* (*cS*)(*Cs*). În urma testării cu forma dublu recesivă (*cs*)(*cs*) se obțin aproximativ; 97,06% combinații parentale și 3,00% recombinări (crossovere).

CUM SE IZOLEAZĂ PROTOPLAȘTII

Protoplastul (la plante) reprezintă ansamblul conținutului celular situat în interiorul peretelui celular pecto-celulozic; deci protoplastul este o celulă fără perete celular.

Pentru izolarea protoplaștilor se utilizează metoda enzimatică, bazată pe acțiunea conjugată a enzimelor pectinaza și celulaza asupra peretelui celular.

Iată tehnica de obținere a protoplaștilor din parenchim foliar de tutun diploid: plantele de tutun (de aproximativ 10 săptămîni), înainte de recoltarea frunzelor, se țin aproximativ 2 zile în condiții de luminozitate și umiditate abundentă (80%). Se recoltează frunze care și-au terminat creșterea. Acestea se sterilizează la suprafață prin introducerea timp de un minut în alcool etilic 70%, după care se tratează cu soluție de hipoclorit de sodiu 2% timp de 20—30 minute. Apoi frunzele se spală cu apă distilată. De pe aceste frunze se îndepărtează epiderma inferioară și apoi fragmente mici din epidermă sau parenchim sînt introduse în 8—10 ml soluție de macerare enzimatică, sterilizată în prealabil prin trecerea prin filtru milipor (0,45 microni). Soluția cu amestec de enzime are următoarea compoziție (după *J. B. Power* și *E. C. Cocking*, 1970):

— macerozimă 0,5%;

— celulază 2% în 13% sorbitol sau manitol la pH = 5,4.

Digerarea membranelor celulare se face în aproximativ 16 ore, la 25°C. După incubare, segmentele

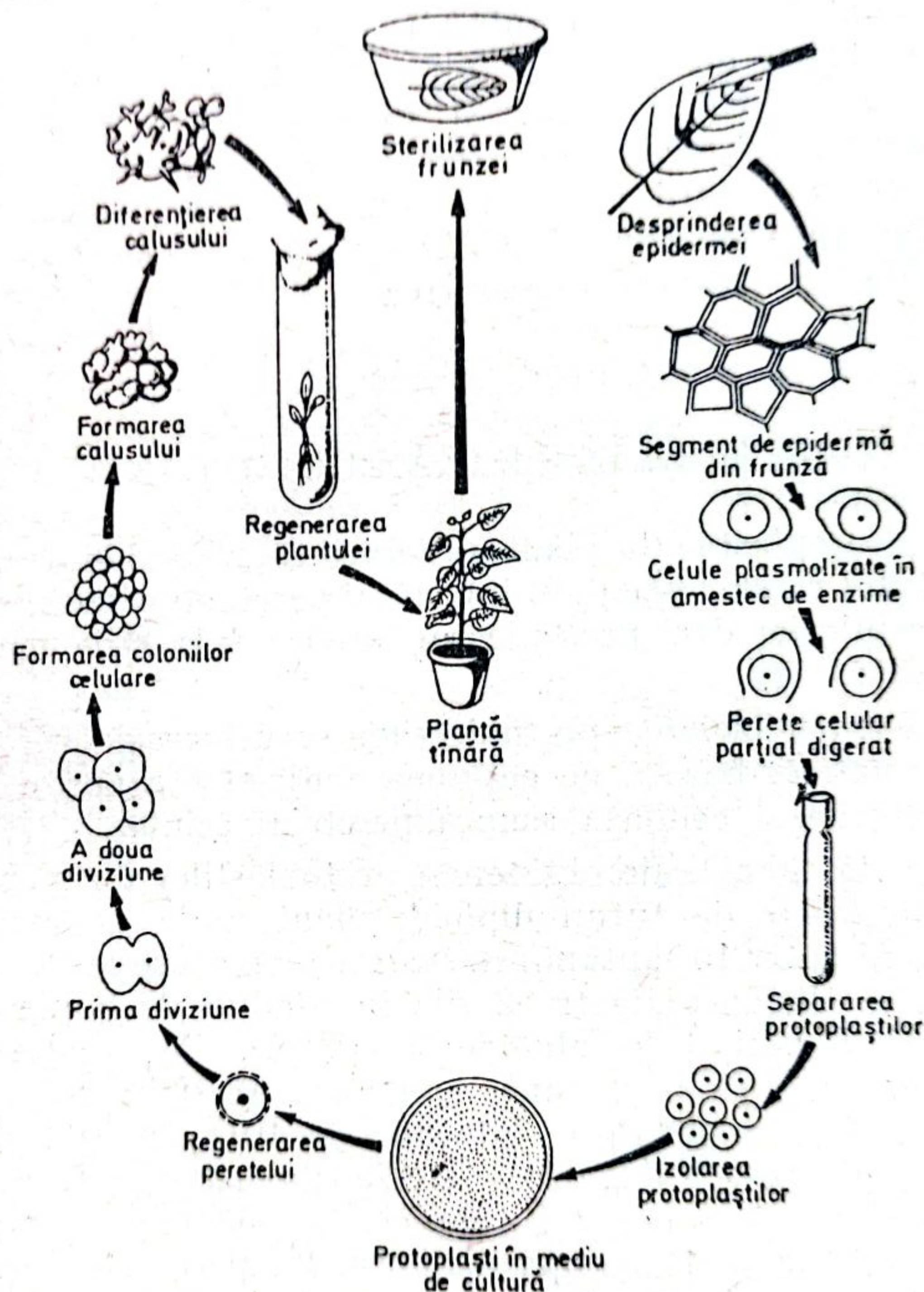


Fig. 57. Schema izolării, culturii și regenerării plantelor din protoplaștii obținuți din epiderma frunzei (după *Y. P. S. Bajaj*, 1974).

de frunză sînt apăsate ușor pentru eliberarea protoplaștilor. Suspensiile de protoplaști sînt separate de enzime și de resturile celulare prin 3—4 centrifugări

în mediul de cultură, timp de 3′ la o turație scăzută. Protoplaștii astfel separați se pot trece direct pe mediul de cultură (fig. 57).

Pentru obținerea protoplaștilor din polen matur, grăunciorii de polen sînt sterilizați cu hipoclorit de sodiu 2% timp de 10 minute, apoi pentru digerarea exinei sînt tratați cu o soluție de KOH și după care se plasează timp de 24 ore într-un amestec de enzime:

— celulază 2%;
— macerozim 1%;
— helicază 0,5%;
— rozim 1%
— sulfat de potasiu 0,1% (în 15% glucoză).

Mediul de cultură utilizat pentru dezvoltarea protoplaștilor izolați din mezofil de *N. tabacum*, pentru 1 litru:

— macroelemente Skoog	1 000 ml (sol. mamă)
— microelemente Heller	1 ml (sol. mamă)
— Fier E.D.T.A.	10 ml (sol. mamă)
— Vitamine Morel	12 ml (sol. mamă)
— Zaharoză	20 g/l
— ANA (acid naftalen acetic)	0,1 mg
— B.A. (benzyl amino purină)	0,2 mg
— Agar	6,0 g/l
— Glucoză (ca agent plasmolizant)	100,0 g/l
— Apă distilată	1 000 ml

SCHIMBĂRI ÎN STRUCTURA ȘI NUMĂRUL CROMOZOMILOR ȘI GENELOR

Variațiile numerice și structurale naturale sau induse experimental la nivelul cromozomilor și genelor constituie fenomene deosebit de importante care îndeplinesc un rol însemnat în producerea materialului genetic necesar evoluției viețuitoarelor și creării unor genotipuri noi utile omului.

SCHIMBAREA NUMĂRULUI DE CROMOZOMI

Fiecare specie eucariotă se caracterizează printr-un anumit număr de cromozomi, dublu în celulele somatice (numărul *diploid* — $2n$) și simplu în cele gametice (numărul *haploid* — n)

În ansamblu, la speciile eucariote, numărul de cromozomi variază în limite mari. Astfel, în regnul vegetal specia *Haplopappus gracilis* posedă în celula somatică $2n=4$ cromozomi, iar la specia *Graptopetalum pachyphyllum*, $2n=540$ cromozomi, în timp ce în regnul animal specia de nematozi *Ascaris megalocephala* var. *univalens* posedă în celula haploidă $n=1$ cromozom, iar specia de radiolari *Aulacantha* posedă în celula somatică $2n=1\,600$ cromozomi.

În unele cazuri, numărul de cromozomi poate varia în mod normal de la un țesut sau organ la altul. De

exemplu, la spanac la care $n=6$ ($2n=12$), în țesuturile meristematice ale rădăcinilor, există celule cu $2n=$ $=24$, 48 și 96 cromozomi. În alte cazuri, celulele somatice și gametice pot avea în plus sau în minus față de numărul normal, unu, doi, trei etc. cromozomi.

Variațiile în numărul de cromozomi sînt clasificate în două clase principale:

1 — *euploidie* — la care cariotipul indivizilor este format exact, fie dintr-un *număr de bază* sau dintr-un *set monoploid de cromozomi* (simbolizat x; de unde denumirea de *monoploidie* dată acestui tip de variații în numărul de cromozomi), fie dintr-un *multiplu al numărului de bază de cromozomi* ($3x$, $4x$, $5x$ etc., de unde denumirea de *poliploidie*). Euploizii diferă așadar față de numărul diploid, $2x$, prin genomi întregi, în minus sau în plus (deci, simbolul x =*setul de bază* sau *numărul monoploid* de cromozomi, $2x$ =*numărul diploid* de cromozomi, n =*numărul gametic* sau *haploid* de cromozomi, iar $2n$ =*numărul zigotic* sau *somatic* de cromozomi);

2 — *aneuploidie* — la care cariotipul indivizilor sau celulele somatice au față de numărul normal caracteristic speciei, unu, doi sau cîțiva cromozomi întregi în plus (fenomen denumit *polisomie*) sau în minus (fenomen denumit *oligosomie*).

EUPLOIDIA

MONOPLOIDIA. Un organism monoploid conține în celulele somatice un singur set sau un singur număr de bază de cromozomi — x. Monoploizii apar din diploizi — $2x$, și posedă numărul gametic (haploid) al speciei. Organismele monoploide posedă la fiecare dintre loci doar o singură alelă, deci sînt *hemizigote*.

În general, în literatura de specialitate este mai frecvent utilizată noțiunea de *haploidie*, care are o sferă mai largă decît noțiunea de monoploidie. Fenomenul de haploidie indică starea în care celula somatică sau un organism *posedă numărul gametic de cromozomi* — n. Înseamnă că haploizii pot deriva atît din organisme

diploide — $2x$ cînd vor fi *monoploizi* — x, cît și din organisme *poliploide* — $4x$, $6x$ etc. cînd vor fi *dihaploizi* — $2x$, *trihaploizi* — $3x$ etc.

Haploizii apar atît la plante cît și la animale. Ei pot apărea spontan sau pot fi induși experimental.

Primul haploid a fost descoperit la *Datura stramonium* ($2x=24$) de către *J. Belling* și *A. F. Blakeslee* (1922). Apoi au fost semnalați și la alte specii de plante: *Nicotiana tabacum*, *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Secale cereale*, *Zea mays* etc.

În general, haploizii pot fi *partenogenetici* și *androgenetici*.

Haploizii partenogenetici apar în urma diviziunii și dezvoltării elementelor haploide ale sacului embrionar (oosferă, sinergide etc.), în lipsa procesului fecundării, iar cei androgenetici prin dezvoltarea celulelor gametofitului mascul.

Inducerea haploizilor la plante. Metodele și tehnicile pentru producerea și identificarea plantelor haploide s-au perfecționat treptat. Unele dintre acestea — primele elaborate — constau în intervenții asupra sporofitului diploid, urmate de identificarea în descendență a eventualilor indivizi haploizi. Alte metode se bazează pe utilizarea gametofitului mascul, fie a unui stoc genetic special cu un sistem de gene marker dominante, fie producerea plantelor haploide direct din polen.

O bună parte dintre metodele de inducere a haploizilor se bazează pe diferite procedee de împiedicare sau înlăturare a procesului de fecundare în scopul dezvoltării partenogenetice a componentelor haploide ale sacului embrionar.

O metodă deosebit de eficientă a fost descoperită și încercată în ultimii ani. Aceasta constă în obținerea *plantelor haploide direct din grăunciorii de polen*. Datorită simplității ei, această metodă poate revoluționa producerea și folosirea haploizilor. Metoda a fost elaborată și experimentată cu succes la specii și soiuri de *Nicotiana*, de către *Nakata* și colaboratorii (1968), *Nitsch* și colaboratorii (1969) ș.a. Obținerea plantelor

haploide se realizează prin punerea grăunciorilor de polen aflaţi într-un stadiu anumit (uninucleaţi şi liberi de amidon) pe un mediu nutritiv. În aceste condiţii unii grăunciori de polen proliferează în structuri similare embrionului, care se dezvoltă în stadii asemă-

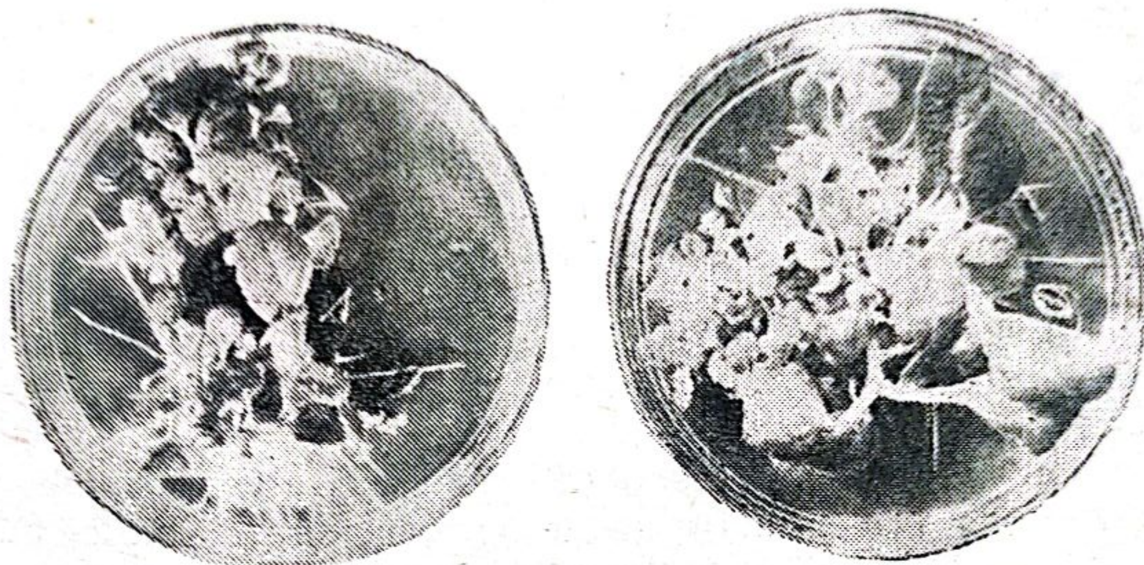


Fig. 58. Plante haploide de tutun, *Nicotiana tabacum*, obţinute din polen, pe mediu de cultură. Deoarece aceste plantule rezultă direct din polen au ca şi polenul acelaşi număr de cromozomi şi anume $n=24$, cu 1/2 mai puţin decît în celula somatică diploidă obişnuiă, rezultată în urma fecundării, care posedă $2n=48$ cromozomi.

nătoare celor ale embrionilor zigotici. Plantele rezultate pe această cale din grăunciorii de polen sînt haploide.

În obţinerea unor plantule haploide direct din polen un rol esenţial îl are stadiul de dezvoltare a microsporului. La *Nicotiana* s-au obţinut rezultatele cele mai bune cînd s-au recoltat stamine din flori care aveau petalele egale ca mărime cu sepalele. În acest stadiu, anterele sînt închise, tapetumul în curs de degenerare, iar polenul este uninucleat sau binucleat adică imediat înaintea sau în timpul primei diviziuni mitotice (a nucleului grăunciorului de polen). Spre deosebire de speciile de *Nicotiana* şi *Datura* unde produşii androgenezei apar în interiorul anterelor, la *Brassica* s-au obţinut plăntuţe din calusul format de polenul matur, cultivat singur, desprins din antere (fig. 58).

Caracteristicile haploizilor. La haploizi se constată o reducere generală a dimensiunilor organelor vegetative și florale. Comparativ cu formele diploide din care provin, haploizii manifestă o vigoare și o vitalitate scăzută și o creștere încetinită. Haploizii speciilor alogame manifestă o reducere mai pronunțată a dimensiunilor corporale și vigorii, față de haploizii speciilor autogame. Polihaploizii prezintă uneori caracteristici asemănătoare formelor de origine.

O altă caracteristică a haploizilor este creșterea vegetativă excesivă în perioada reproductivă ceea ce duce la o fructificare și o fertilitate redusă.

Citogenetica haploizilor. Cromozomii mitotici la haploizi manifestă, în general, un comportament normal în diviziune.

Un fenomen interesant de remarcat este variabilitatea mare a numărului de cromozomi la haploizi. Astfel, la haploizii de *N. tabacum*, numărul de cromozomi variază între 18 și 24. Deci, unii indivizi haploizi nu posedă toată garnitura haploidă tipică de $n=24$. Se formează un mare număr de celule aneuhaploide ($n=18$, 20, 22, 23, 26). Se creează astfel posibilitatea ca prin haploidie să se obțină plante aneuploide de diferite tipuri (M. Pătrașcu și col., 1976).

După cum s-a precizat, la haploizi, în celula somatică cromozomii nu apar în perechi ca în celula normală ci sînt reprezentați de un singur membru (fig. 59 și fig. 60).

Aceasta face ca diviziunea de formare a gameților-meioza să se desfășoare anormal. Astfel, în profaza I, din cauză că nucleul posedă un număr simplu de cromozomi — *n*, fiecare cromozom fiind monovalent, nu apar tetrade cromozomale ca în profaza I obișnuită. În metafaza I acești cromozomi se deplasează spre poli la întîmplare. Distribuția între cei doi poli poate varia de la *n*-1 la 50% din setul haploid de cromozomi. Aceasta determină anomalii în formarea gameților și sterilitatea haploizilor.

În unele cazuri rare, la sfîrșitul profazei I, cromozomii autoduplicați și formați din două cromatide



Fig. 59. Diviziune mitotică în metafază la o plantă haploidă de tutun, *N. tabacum*, $n=24$, se observă că fiecare cromozom este reprezentat de un singur membru.

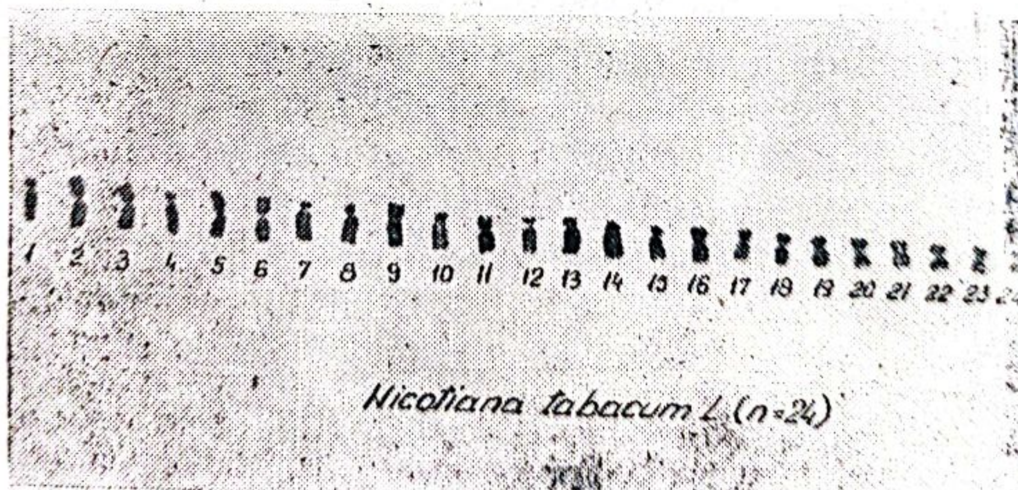


Fig. 60. Idiograma complementului cromozomal la o plantă haploidă de tutun, *N. tabacum*, $n=24$. Pentru studiu, complementul haploid poate fi comparat cu complementul diploid, $2n=48$ (prezentat în figura 27).

surori se atașează de firele fusului acromatic și migrează în totalitatea lor spre un singur pol. Se formează astfel un așa-numit *nucleu de restituție*. Acesta se divide normal în metafaza II și în următoarele etape ale sporogenezei, determinînd formarea unor gameți femeli și masculi funcționali. În alte cazuri cromozomii constituiți din două cromatide surori, pot să se separe la sfîrșitul profazei I și apoi în cursul următoarelor faze ale diviziunii să migreze cîte una spre pol. Astfel, după prima diviziune, pot apărea diade în nucleii cărora se află un număr normal haploid de cromozomi. Din asemenea formațiuni apăr gameți normali.

Gameți funcționali se pot forma și în cazurile în care pe plantele haploide apar sectoare diploide. Dacă celulele sporogene se formează din asemenea sectoare diploidizate ale haploizilor, meioza se va desfășura normal. Ca urmare, ovulele, polenul și deci singamia (fecundarea) vor fi normale.

Dublarea haploizilor. Faptul că organismele haploide posedă cîte un singur membru din fiecare cromozom, face ca pentru fiecare locus din cromozom să fie prezentă doar o singură *alelă*. Deci organismul haploid posedă un singur set de gene, este *hemizigot*. În diviziunea celulară (mitoză sau meioză) ca și în apariția sectoarelor diploide, are loc o autoduplicare a cromozomilor monovalenți, respectiv a fiecărei alele în parte. Aceasta face ca gameții femeli sau masculi, care se formează ocazional pe plantele haploide să posede aceleași alele, să fie deci identici genetic. Ca urmare, prin unirea în procesul fecundării a doi asemenea gameți produși pe aceeași plantă haploidă, se formează zigoți, respectiv organisme diploide — $2n$, care posedă pentru fiecare locus *cîte două alele de același fel*. Pe bună dreptate organismele diploide apărute în urma autopolenizării haploizilor se numesc *dublu haploide* sau *haploizi dubli*. Constituția genetică a haploizilor dubli este, teoretic, *complet homozigotă*.

Haploizii dubli au o descendență identică și uniformă genetic. Importanța și utilitatea teoretică și practică a haploidiei rezidă tocmai în faptul că acest

fenomen contribuie la formarea în cadrul speciilor de plante cultivate, a unor indivizi absolut homozigoţi.

Dublarea numărului de cromozomi haploizi se face prin colchicinizarea sporofitului haploid sau prin endomitoză. Utilizarea colchicinei favorizează apariţia printre celulele haploizilor cu un singur set haploid de cromozom a unor celule cu două seturi identice de cromozomi.

De exemplu, la porumb, pentru diploidizare se utilizează o soluţie de colchicină cu o concentraţie între 0,025—0,05%, injectată hipodermic în nodul scutelar sau care este introdusă în teaca coleoptilului prin vacuum sau prin tăierea primei frunzuliţe. În cazul producerii plantulelor haploide direct din polen, pentru diploidizare, staminele cu grăunciorii de polen în plin proces de proliferare (diviziune) a structurilor embrionare haploide, se trec pe un mediu de cultură cu colchicină. Sub influenţa acesteia are loc dublarea numărului de cromozomi. După 24—28 ore se trec din nou pe mediu fără colchicină, unde plantulele sînt lăsate pînă la transplantare în ghivece nutritive pentru obţinerea haploizilor dubli fertili.

Descendenţii diploizi homozigoţi se produc prin *autopolenizare controlată*. În acest scop la plantele haploide, diploidizate, homozigote, inflorescenţa se introduce în izolatori speciali, realizîndu-se prin aceasta condiţiile necesare fecundării între gameţi produşi pe aceeaşi plantă, cu aceeaşi structură genică. Are loc astfel o consangvinizare absolută ce asigură crearea după o singură autopolenizare a unor linii complet homozigote, izogenice, care dau o descendenţă uniformă şi stabilă genetic.

Haploidia şi analiza genetică. Trăsătura esenţială a haploizilor şi cu deosebire a monoploizilor este starea de hemizigoţie. Aceasta permite manifestarea tuturor alelelor prezente. O asemenea situaţie asigură condiţiile necesare pentru identificarea directă, pe baza analizei genetice, atît a alelelor normale cît şi a alelelor mutante, apărute spontan sau prin inducere cu ajutorul unor factori mutageni.

Fenomenul haploidiei poate fi utilizat cu succes în scopul stabilirii grupelor linkage de gene (a cromozomilor cu constituţia lor genică). O asemenea analiză se realizează mai uşor la nivel haploid, comparativ cu nivelul diploid.

Utilizarea haploidiei în ameliorarea plantelor. Obţinerea unor linii complet homozigote diploide într-o singură generaţie, prin simpla unire a gameţilor produşi de o plantă haploidă, înlătură necesitatea aplicării autopolenizării controlate repetate atît la plantele autogame, cît şi la cele alogame. La plantele alogame, mai ales la speciile autoincompatibile, la care descendenţii consangvinizaţi sînt puţini şi cu vitalitate redusă, iar realizarea de forme homozigote este dificilă, folosirea haploidiei este una dintre căile cele mai eficiente de obţinere a liniilor consangvinizate.

Faptul că liniile duble haploide se creează în 1—2 ani, iar liniile consangvinizate sau liniile pure relativ homozigote, se obţin în 6—8 ani, explică marele interes manifestat de amelioratori faţă de haploidie şi de metoda androgenezei. Astfel, crearea liniilor homozigote şi utilizarea lor în producerea hibrizilor comerciali s-a extins mult la porumb. Haploizii sînt incluşi în programele de ameliorare şi la alte specii de plante: grîu, sorg, tutun, floarea-soarelui, specii ornamentale, cartof, ardei gras, in, lucernă, tomate etc.

Liniile dublu haploide, valoroase din punct de vedere agronomic, pot fi utilizate direct în producţie, în special la plantele autogame şi la cele cu reproducere vegetativă.

Haploizii, datorită stării lor de hemizigoţie, permit separarea încă din prima generaţie a mutaţiilor utile constituind astfel un material ideal pentru producerea de mutaţii.

POLIPLOIDIA. Fenomenul de poliploidie constă în multiplicarea numărului de genomi din celule, fiecare genom fiind reprezentat de un număr de bază de cromozomi simbolizat — x. Poliploidia este un proces de duplicarea concomitentă a tuturor grupelor linkage.

Se consideră că poliploidia este unul dintre cele mai răspîndite și eficiente procese cariologice care a afectat evoluția unor grupe mari de plante și unele animale.

Procentul cel mai ridicat de forme poliploide (40—50%) se întîlnește la plantele angiosperme, iar cel mai redus la gimnosperme.

Dintre speciile de plante studiate 43% (aproximativ 12 000 de specii) dintre Dicotiledone și 58% (peste 5 000 de specii) dintre Monocotiledone sînt poliploide. Și în cadrul diferitelor familii de plante, variază proporția speciilor poliploide. O frecvență mare de specii poliploide posedă familiile: *Gramineae* (aprox. 75%), *Rosaceae*, *Poligonaceae*, *Malvaceae*, ș.a. În cadrul unor familii, unele genuri sînt constituite numai din specii diploide, iar altele cuprind atît specii diploide cît și specii cu grade diferite de ploidie. De exemplu, în cadrul genului *Solanum* unele grupe de specii sînt poliploide altele diploide.

Poliploidia este destul de frecventă și la celelalte grupe de plante, ca algele, ciupercile, mușchii și ferigile.

Familiile *Cucurbitaceae*, *Moraceae*, *Fagaceae* ș.a. sînt *diploide.*

În general, cercetările au relevat faptul că multiplicarea garniturii proprii de cromozomi sau autopoliploidia a avut o influență relativ mai mică în apariția formelor poliploide. Rolul principal l-a avut multiplicarea garniturilor cromozomice pe calea hibridării între specii (alopoliploidia). În legătură cu această problemă *T. H. Goodspeed* (1954), consideră că cele 65 de specii care alcătuiesc genul *Nicotiana* cu număr de bază $x=6$ cromozomi, derivă din două complexe ancestrale: *Petunioid* și *Cestroid*. S-a stabilit, de asemenea, și originea alopoliploidă a o serie de alte specii din genurile *Gossypium*, *Avena*, *Triticum* ș.a.

La animale, poliploidia este rară, întîlnindu-se doar la cîteva grupe de nevertebrate.

Astfel, unele specii de insecte, iar în cadrul unor specii, diverse subspecii sau forme, sînt poliploide. La reproducerea acestora apar însă procese deosebite,

care contribuie tocmai la păstrarea stării diploide sau poliploide. La acestea, fie că nu au loc procese reducționale în formarea gameților (are loc o ameioză sau au loc procese de restituție care asigură formarea unor nuclei diploizi), fie că dezvoltarea este partenogenetică. Astfel, diverse specii sau forme de *Lumbricidae* triploide, tetraploide și decaploide se înmulțesc numai prin partenogeneză fără împerechere. Altele se pot împerechia și sînt partenogenetic facultative.

La speciile de insecte din ordinele *Hymenoptera*, *Rotifera*, *Thysanoptera* (unele), *Homoptera*, *Coleoptera* și *Acarina*, femelele diploide sau poliploide se dezvoltă în urma fecundării, în timp ce indivizii de sex mascul se dezvoltă partenogenetic. De exemplu, la specia tetraploidă *Diprion simile*, femelele posedă în celulele somatice $2n=28$ cromozomi, iar masculii $n=14$ ($x=7$). Studiul asupra comportării cromozomilor în meioză a dus la formularea părerii că multiplicarea garniturilor cromozomice a avut loc prin autopoliploidie.

Se consideră că și hibridarea îndepărtată a avut rol în formarea unor poliploizi la animale. Această concluzie a fost formulată în urma studiului speciilor de broaște sud-americane din genul *Odontophrynus*. S-a stabilit astfel că *O. occidentalis* (din Argentina) și *O. cultripes* (din Brazilia) sînt specii diploide, la care $2x=22$ cromozomi, iar specia *O. americanus* este tetraploidă, avînd $2n=4x=44$. Studiile au relevat similitudini între cromozomii speciilor diploide și cromozomii speciei tetraploide (*M. L. Beçak* și col, 1966).

Poliploidia produce o mărire a cantității de material genetic (de ADN) pe celulă comparativ cu formele diploide. În general, cantitatea de ADN din celulă crește proporțional cu gradul de ploidie.

După origine poliploizii pot să apară prin *autopoliploidie* și *alopoliploidie*. În primul caz poliploizii apar în urma multiplicării aceleiași garnituri cromozomale de bază (aceluiași genom) a unei specii, iar în cazul secund, poliploizii rezultă în urma dublării garniturilor cromozomale la hibrizii interspecifici sau intergenerici.

Autopoliploidia poate apărea spontan sau poate fi produsă experimental. În natură autopoliploidia a afectat o serie de grupe de plante. Faptul că speciile autopoliploide au organele vegetative și reproductive mai mari precum și alte însușiri pozitive a făcut ca omul să le selecționeze și să le cultive. Dintre speciile autopoliploide menționăm cartoful (*Solanum tuberosum*, $4x=48$), usturoiul (*Allium porrum*, $4x=32$), golomățul (*Dactylis glomerata*, $4x=28$), lucerna (*Medicago sativa*, $4x=32$), alunele de pămînt (*Arachis hypogea*, $4x=40$), arborele de cafea (*Coffea arabica*, $2n=22$, 44, 66, 88), unele soiuri de viță-de-vie (*Vitis vinifera*, $4x=76$) ș.a.

De asemenea, în cultură au fost introduse și forme triploide care manifestă heterozis și nu au semințe ca: bananierul (*Musa esculentum*, $3x=33$), unele soiuri de viță-de-vie (*Vitis vinifera*, $3x=57$), diferite soiuri de măr (*Mallus domestica*, $3x=51$) ș.a. La numeroase specii de plante ornamentale există forme autopoliploide, care au înlocuit pe cele diploide datorită calităților lor decorative.

Autotriploidia ($3x$) este produsă planificat prin hibridări controlate între forme diploide ($2x$) și tetraploide ($4x$) la pepenele verde (*Citrullus vulgaris*, $3x=33$), la sfecla de zahăr (*Beta vulgaris*, $3x=27$) și alte specii, deoarece formele hibride triploide F_1, beneficiază atît de heterozis cît și de poliploidie fapt ce le conferă o superioritate productivă evidentă comparativ cu genitorii diploizi și autotetraploizi.

Caracteristicile autopoliploizilor. Există un raport direct proporțional între gradul de poliploidie și unele caracteristici morfologice ca: mărimea și densitatea stomatelor pe unitatea de suprafață foliară, mărimea grăunciorilor de polen, numărul de pori germinativi ai grăunciorilor de polen ș.a. Comparativ cu formele inițiale diploide, autopoliploizii manifestă o serie de modificări fenotipice pozitive care se exteriorizează prin creșterea taliei și volumului (datorită creșterii dimensiunilor nucleilor și respectiv a celulelor). Se constată, de asemenea, diferențe în ceea ce privește intensitatea diferitelor procese fiziologice cum sînt fotosinteza,

transpirația și activitatea enzimatică. În general, aceste procese se petrec cu o intensitate mai mare la organismele poliploide.

Autopoliploizii pot apărea în natură sau pot fi induși artificial cu ajutorul unor factori poliploidizanți care afectează variat mecanismul diviziunii celulare. În toate cazurile este afectat aparatul mitotic fapt ce determină acumularea de metafaze și ca urmare are loc dublarea numărului de cromozomi. Astfel, datorită unor anomalii meiotice se formează gameți nereduși (diploizi — $2x$) din a căror unire în procesul fecundației rezultă un autotetraploid ($4x$). Diviziunile mitotice anormale, cu nuclei de restituție (cînd cromozomii migrează la un singur pol) determină apariția unor celule somatice tetraploide care vor genera gameți diploizi ($2x$). Aceștia în urma fecundării vor produce o descendență tetraploidă. Într-o serie de situații, după formarea zigotului diploid, pot avea loc diviziuni mitotice anormale, astfel că rezultă un organism întreg autotetraploid.

Citogenetica autopoliploizilor. Caracteristic autopoliploizilor este fertilitatea redusă. Reducerea fertilității este determinată, în bună parte, de o disjuncție neuniformă a cromozomilor în diviziunea meiotică, datorită faptului că în profaza I se formează multivalenți și univalenți. Această situație este rezultatul existenței a mai mult decît doi membri homologi pentru fiecare cromozom, fapt ce face ca în meioză să nu se formeze bivalenți, ci grupuri care cuprind atîția cromozomi cîte seturi de cromozomi sînt prezente în organism ($2x$, $4x$, $6x$, $8x$ etc.). Așadar, rezultă că în meioza autopoliploizilor se formează multivalenți de diferite tipuri, în timp ce anumiți cromozomi, care nu sînt capabili să se împerecheze, rămîn sub formă de univalenți. O asemenea situație determină separarea neuniformă a cromozomilor spre cei doi poli și, ca urmare, formarea unui număr mare de spori nefuncționali.

La autotriploizi, $3x$, anomaliile care survin în meioză împiedică total formarea unor gameți normali, fapt

care în anumite situații poate prezenta și o importanță practică. De exemplu, datorită triploidiei se produc banane fără sămînță, pepeni verzi fără sămînță etc. La speciile triploide, cum sînt: azaleele, crinii, cireșii japonezi ș.a., sterilitatea asigură rămînerea florilor proaspete un timp mai îndelungat etc.

În meioza autotetraploizilor ($4x$) se constată prezența tetravalenților. De exemplu, la *Lolium perenne* ($4x=28$), mai mult de jumătate din tetravalenți se găsesc sub formă de inel și aproape o treime sînt aranjați liniar.

Din cauza împerecherii întîmplătoare a cromozomilor la autotetraploizi are loc o segregare genotipică și fenotipică deosebită de cea întîlnită la diploizi. Astfel, la un autotetraploid heterozigot cu alelele *AAaa*, în descendență se pot întîlni 5 genotipuri diferite: *AAAA*, *AAAa*, *AAaa*, *Aaaa* și *aaaa*. Dacă cei patru cromozomi se numerotează de la 1—4, se poate urmări segregarea genotipurilor în urma distribuției întîmplătoare a cromozomilor (fig. 61).

Autotetraploizii, avînd genomi homologi, sînt, în general, fertili. Se întîlnesc adeseori și cazuri de sterilitate parțială și chiar totală datorită formării unor gameți aneuploizi (gameți cu numere diferite de cromozomi).

Tocmai datorită fertilității mai reduse majoritatea autopoliploizilor se cultivă pentru organele lor vegetative care sînt mai mari comparativ cu organismele diploide. Singura formă care face excepție este secara autotetraploidă ($2x=14$; $4x=28$). Aceasta, cu toate că are o fertilitate mai redusă și produce un număr mai mic de boabe (cu 20—25%, comparativ cu secara diploidă) s-a răspîndit totuși în producție (în unele țări cum sînt Suedia, R.F.G., R.D.G., Polonia), datorită faptului că boabele produse de plantele autotetraploide sînt mai mari și mai grele (cu aproximativ 50% comparativ cu boabele secarei diploide) (fig. 62).

Inducerea poliploidei. Pe baza cunoașterii mecanismelor citologice de apariție a autopoliploizilor au fost

Părinți	Raport gametic	Raport fenotipic
$A_1A_2a_3a_4$ × $A_1A_2a_3a_4$	1AA : 4Aa : 1aa	35A : 1a
$A_1A_2a_3a_4$ × $A_1a_2a_3a_4$	1AA : 4Aa : 1aa 1Aa : 1aa	11A : 1a
$A_1A_2a_3a_4$ × $a_1a_2a_3a_4$	1AA : 4Aa : 1aa toți aa	5A : 1a
$A_1a_2a_3a_4$ × $A_1a_2a_3a_4$	1Aa : 1aa	3A : 1a
$A_1a_2a_3a_4$ × $a_1a_2a_3a_4$	1AA : 1aa toți aa	1A : 1a

Fig. 61. Raporturile de segregare fenotipică la autotetraploizi în cazul în care alela dominantă se manifestă și atunci cînd este prezentă într-o singură doză (după *W. Williams*, 1964).

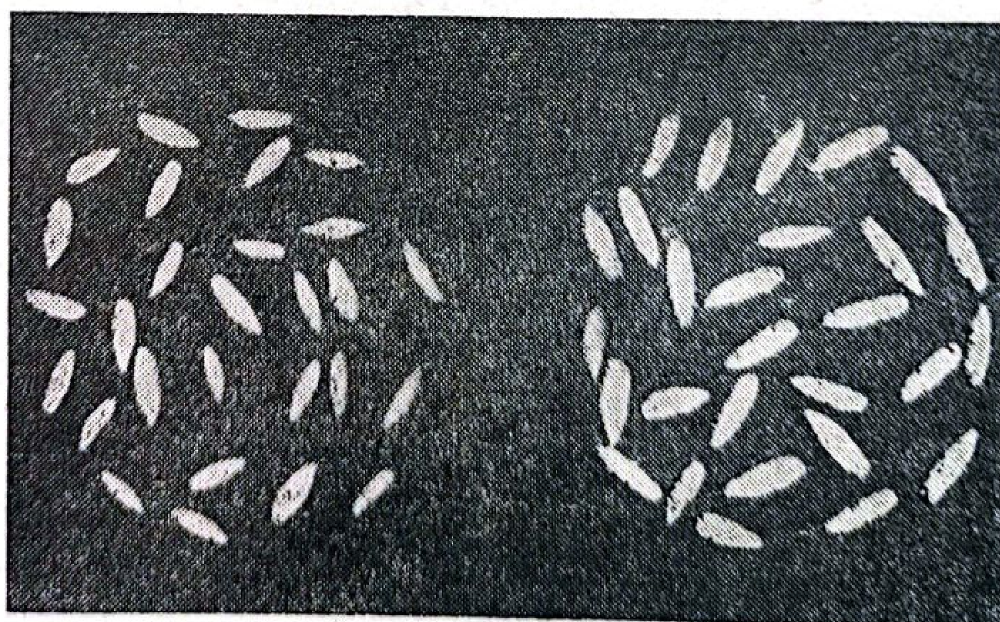


Fig. 62. Boabe de secară: a — diploidă, $2x=14$ cromozomi; b — tetraploidă, $4x=28$ cromozomi.

elaborate metode de inducere experimentală a acestui fenomen la plante și animale.

La animale, obținerea de autopoliploizi este mai dificilă. În general, se obțin rezultate pozitive la organismele la care mecanismul genetic de determinare a sexului nu este bine diferențiat (nevertebrate și vertebrate inferioare).

Inducerea experimentală a poliploidiei are la bază dereglarea sistemelor celulare care mențin starea normală diploidă de cromozomi. Asemenea anomalii pot fi provocate prin regenerarea unor țesuturi, acumularea de mitoze în celulele somatice și înlăturarea reducerii cromozomale în diviziunea meiotică sau inducerea fuziunii a doi nuclei după meioză.

Obținerea poliploizilor prin regenerarea unor țesuturi este posibilă în urma eliminării tulpinii sau ramurilor unei plante care formează la locul respectiv calus ce generează uneori și muguri tetraploizi. În acest caz are loc o endomitoză, adică duplicarea cromozomilor fără diviziunea nucleului.

La plante, forme poliploide se pot obține și din semințe care formează doi sau mai mulți embrioni (poliembrionie), iar la animale din ovule fecundate, de mai mulți spermatozoizi (polispermie).

Șocurile de temperatură ridicată sau scăzută aplicată plantelor imediat după polenizare sau la ouă proaspăt fecundate, determină apariția unor celule poliploide și diploide. Tratamentele cu șocuri de temperatură au fost eficiente la o serie de plante (porumb, păr etc.). Rezultate similare se pot obține și prin centrifugare.

Inducerea artificială a poliploidiei s-a extins după descoperirea efectului poliploidizant al colchicinei. Colchicina este un alcaloid extras din bulbii de *Colchicum autumnale* (brîndușa de toamnă).

Tratamentul cu colchicină permite diviziunea normală a cromozomilor dar inhibă formarea tubulilor fusului de diviziune. Colchicina (și derivatul său colcemida) sau alte substanțe chimice cu efecte similare (narcotina, cumarina, derivații naftalenei, iodacetamida, sărurile de cadmiu, paradiclorbenzenul etc.) fixează sau opresc diviziunea mitotică sau meioza în metafază

ca urmare a inhibării formării sau funcționării fusului de diviziune, astfel că, cromozomii metafazici nu se pot deplasa spre poli, fiind incluși într-o singură membrană nucleară.

Soluțiile de colchicina se utilizează în tratarea țesuturilor meristematice, a semințelor în timpul germinării, a zigoților, într-o concentrație cuprinsă între 0,001 și 1%, de la cîteva minute pînă la 24 de ore. Tratamentele prelungite cu colchicină pot determina acumularea cîtorva metafaze, astfel că se poate ajunge la un grad ridicat de poliploidie ($8x$, $16x$ etc.).

La plante, inducerea autopoliploidiei este favorabilă mai ales la speciile care nu se cultivă pentru sămînță, cum sînt sfecla de zahăr, pepenii verzi, speciile furajere, speciile ornamentale, rădăcinoasele etc.

Alopoliploidia (*amfiploidia*) constă în multiplicarea seturilor de cromozomi în urma hibridărilor îndepărtate. Așa cum s-a precizat în capitolul privind „Hibridarea sexuată“ alopoliploizii pot fi genomici și segmentali; unele forme pot fi autoalopoliploizi.

Alotetraploizii derivați din hibrizi interspecifici sau intergenerici prin dublarea garniturilor cromozomalei formează în meioză bivalenți între cromozomii homolog, și meioza se desfășoară normal. Alopoliploizii avînd un cariotip caracteristic se înmulțesc prin fecundarea unor gameți proprii. Ei nu mai au capacitatea de a se încrucișa cu speciile înrudite, și, ca urmare, pot constitui punctul de plecare pentru nașterea unor specii noi (fig. 63).

Autoalopoliploizii posedă seturi multiple de cromozomi (mai mult decît două), originare de la două sau chiar trei specii. Faptul că alături de genomii în duplicat există genomi autotetraplicați, determină formarea în meioză a unor bi- și multivalenți. Ei se pot prezenta sub formă de hexaploizi sau octoploizi, avînd formulele *AAAABB*, *AAAABBBB* sau *AAAABBCC*. Asemenea poliploizi posedă atît însușirile autopoliploizilor, cît și cele ale alopoliploizilor. De exemplu, topinamburul, *Helianthus tuberosus*, cu $2n=6x=102$ cromozomi, se consideră că este un autoalohexaploid, care are două

seturi cromozomale de la floarea-soarelui, *Helianthus annuus*, $2n=2x=34$ cromozomi, și patru seturi ($x=17$; $4x=68$) de la o altă specie înrudită (sau AABBBB).

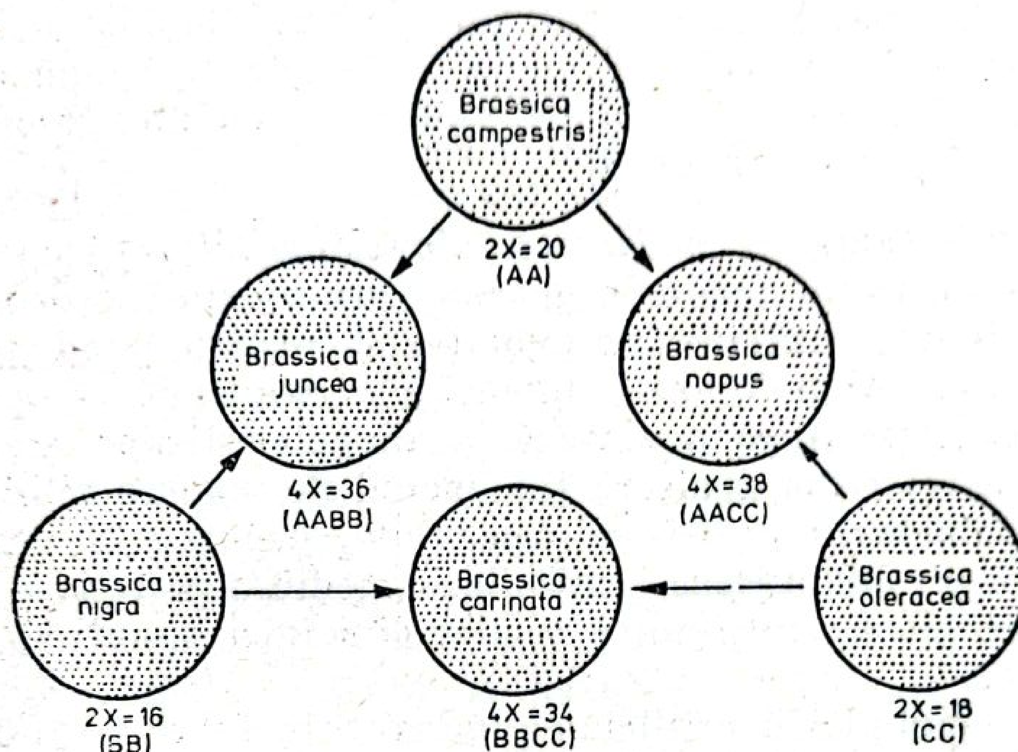


Fig. 63. Relațiile genomice între speciile diploide și amfiploide ale genului *Brassica*.

H. tuberosus constituie o specie importantă pentru hrana animalelor și totodată o sursă valoroasă de gene pentru rezistența la boli a florii-soarelui.

Citogenetica alopoliploizilor. În meioza alopoliploizilor, cromozomii pot forma bivalenți între cromozomii homologi care derivă de la același genitor, de exemplu, A+A, B+B etc. Acest tip de conjugare se numește *autosindeză* și este prezentă la amfiploizi. La conjugarea A+B, conjugare numită *alosindeză*, meioza este anormală.

Amfiploizii pot reprezenta specii sintetice noi, deosebite de speciile genitoare diploide. Avînd meioza normală, ei produc gameți cu genomii AB (în cazul alotetraploizilor) și ABC (în cazul alohexaploizilor).

Singamia se petrece numai între gameții AB+AB sau ABC+ABC, deoarece noul genotip evoluează tocmai spre o asemenea reproducere, iar selecția naturală favori-

zează dezvoltarea unor bariere care împiedică fecundarea încrucişată interspecifică.

În general, dublarea cromozomilor la hibrizii îndepărtaţi poate avea loc fie la începutul embriogenezei cînd ia naştere un individ alopoliploid, fie mai tîrziu (uneori chiar în celulele mamă ale gameţilor) cînd iau naştere unele sectoare alopoliploide, ca urmare, gameţii pot fi diploizi şi haploizi.

Importanţa şi utilizarea alopoliploizilor. Alopoliploidia este un fenomen genetic care prezintă o deosebită importanţă pentru evoluţie şi pentru producţia agricolă. Alopoliploizii fixează şi transmit descendenţilor, pe lîngă o sinteză a caracteristicilor ereditare a celor doi genitori, fenomenul de vigoare hibridă care afectează pozitiv dimensiunile corporale şi capacitatea de adaptare la condiţiile de mediu. Aceste aspecte explică larga răspîndire a alopoliploidiei spontane la plante.

Alopoliploizii artificiali produşi prin hibridare între diverse specii şi genuri, cultivate şi sălbatice înrudite, constituie practic specii noi. Acestea formează surse de plasmă germinativă deosebit de bogate, care în urma activităţilor de ameliorare pot pune bazele chiar a unor viitoare forme cultivate.

Studiul genomilor şi a meiozei amfiploizilor naturali şi artificiali prezintă importanţă în stabilirea speciilor strămoşeşti care au participat la formarea speciilor actuale. Acest fapt este mai uşor de realizat la speciile poliploide mai noi şi dificil la speciile amfiploide mai vechi la care după hibridarea iniţială, genomii şi cromozomii au putut suferi schimbări profunde, fie prin infuzia de gene prin noi hibridări, fie prin restructurări cromozomale şi mutaţii genice care determină formarea unor noi grupe linkage.

POLIPLOIDIA LA ANIMALE. Fenomenul de multiplicare a garniturilor cromozomice este în general rar întîlnit la animale. Se consideră că limitarea poliploidizării la animale se datoreşte separării nete a celor două sexe, care nu au permis o variaţie în numărul de cromozomi. Gameţii cu număr diferit de cromozomi

față de cel normal, nu pot asigura o descendență cu șanse de perpetuare.

La unele specii de nevertebrate, poliploizii au apărut în mod natural, de exemplu, poliploizii de *Artemis salina*. La fluturi, poliploizii se pot obține experimental prin hibridări interspecifice sau prin centrifugarea zigotului la începutul dezvoltării. Uneori poliploizii pot apărea spontan la speciile diploide de Drosophila.

Omul este cumva un poliploid? *S. Ohno* (1970) a sugerat apariția tetraploidiei în timpul evoluției vertebratelor, ca un rezultat al dublării numărului de cromozomi și implicit a conținutului de ADN. Acest fenomen s-ar fi petrecut cu aproximativ $2-3\times10^8$ ani în urmă. Tehnicile moderne de bandare a cromozomilor (evidențierea regiunilor heterocromatice caracteristice cromozomilor fiecărei specii) folosite pentru studiul cariotipului uman, șoarece etc., au relevat existența unei poliploidizări ancestrale la vertebrate.

ANEUPLOIDIA

Aneuploidia indică fenomenul variației numărului de cromozomi în celulele somatice. Astfel, la un organism aneuploid numărul de cromozomi din celulele somatice este diferit, în plus sau în minus, față de numărul de bază (x) de cromozomi, fără a fi multiplul acestuia. De exemplu, la un organism diploid normal (cu disomi-$2x$) a cărui cariotip în celula somatică este constituit din 3 perechi (disomi) de cromozomi nehomologi simbolizate AABBCC, aneuploidia determină următoarele variații ale numărului de cromozomi:

disomie	$2x$	AABBCC
oligosomie:		
monosomie	$2x-1$	AABBC
nulisomie	$2x-2$	AABB
monosomie dublă	$2x-1-1$	ABBC

polisomie:

trisomie	$2x+1$	AABBCCC
tetrasomie	$2x+2$	AABBCCCC
trisomie dublă	$2x+1+1$	AAABBCCC
monosomie-trisomie	$2x-1+1$	ABBCCC
nulisomie-tetrasomie	$2x-2+2$	BBCCCC

Fenomenul pierderii unui membru dintr-o pereche de cromozomi (*monosomia*) sau a ambilor membri (*nulisomia*) este indicat de noțiunea de *oligosomie* (organismul este *oligosomic*), iar fenomenul adăugării unui membru homolog la o pereche (*trisomie*) sau a doi membrii (*tetrasomie*) este indicat de noțiunea de *polisomie* (organismul este *polisomic*).

Aneuploidia se manifestă atît la plante cît și la animale în condiții naturale. Cu ajutorul unor metode adecvate acest fenomen poate fi indus artificial.

La plante, încă din 1910, s-a observat la specia *Datura stramonium* plante care prezentau schimbări ale fenotipului în privința dimensiunilor și formei capsulelor, a taliei, formei frunzelor, vigorii etc. Cercetările citologice au relevat că acestea erau plante aneuploide.

Indivizii aneuploizi polisomici pot apărea în descendența atît a organismelor diploide cît și poliploide în timp ce aneuploizii oligosomici sînt viabili doar cînd apar în organisme poliploide. Diferitele tipuri de poliploizi (autopoliploizii și autoalopoliploizii), produc în diviziunea meiotică asociații de cromozomi (trivalenți, tetravalenți, pentavalenți), fapt ce determină o distribuție întîmplătoare, inegală a cromozomilor în gameți. Datorită nondisjuncției cromozomilor se formează gameți și, respectiv celule diploide, cu număr variabil de cromozomi comparativ cu numărul caracteristic, $2n$. Astfel, la om prin nondisjuncția autozomilor din perechea 21 apare fenomenul trisomiei caracteristic *sindromului Down* ($2n=46+1$ sau $2n=22II+III$, în care 22 perechi normale+cromozomul 21 în triplicat).

POLISOMIA indică fenomenul care face ca un organism să posede un cromozom în trei doze (*trisomic*) sau în patru doze (*tetrasomic*).

Trisomia $(2x+1)$. La *Datura stramonium* $(2n=24)$ au fost descoperite cîteva tipuri de trisomici $(2n+1=$ $=24+1)$. Organismele afectate de trisomie se deosebesc între ele și față de tipul disomic normal printr-o serie de caracteristici morfofiziologice, în special prin forma capsulei.

Trisomicii pot fi, în general, de 3 tipuri: *trisomici primari* care se caracterizează prin prezența a 3 cromozomi homologi care în meioză formează un trivalent în lanț sau o pereche, plus un univalent sub formă de arc; *trisomici secundari* la care extracromozomul este un izocromozom; care are două brațe identice și care a rezultat în urma misdiviziunii centromerului (diviziunea greșită) perpendiculară pe centromer; ca urmare, în loc să aibă loc separarea longitudinală a cromatidelor, are loc separarea transversală). Datorită faptului că brațele izocromozomului au aceleași gene, au tendința să se unească între ele, precum și cu brațele identice ale celorlalți doi cromozomi rezultînd astfel în meioză un trivalent în formă de inel sau de triunghi; *trisomici terțiari*, la care extracromozomul a rezultat în urma unui proces de schimb de brațe între doi cromozomi nehomologi (translocație reciprocă). În meioză, trisomicul terțiar formează un lanț de 5 cromozomi format din 2 perechi normale de cromozomi între care se află extravalentul care se alocă prin brațele sale la cromozomul originar homolog din cele două perechi normale.

Trisomia a fost observată la diferite organisme: *Drosophila*, om, Datura, grîu, orz, porumb, mazăre, spanac, tutun, tomate, petunia etc. La grîu, genetistul american *E. R. Sears* (1954) a obținut la soiul Chinese Spring linii trisomice pentru toți cei 21 de cromozomi care formează setul haploid.

În general, transmiterea trisomiei se face prin gameții femeli $(n+1)$, care tolerează cromozomul extravalent. Obișnuit, gameții masculi aneuploizi $(n+1)$ sînt practic nefuncționali (există un număr foarte mic de spermatii și spermatozoizi care avînd un extracromozom sînt totuși funcționale; așa se explică [apariția tetrasomicilor).

Sursa principală de formare a trisomicilor o constituie autopoliploizii (în special triploizii).

În general, plantele trisomice au o vitalitate și o fertilitate ceva mai redusă comparativ cu plantele disomice normale.

Trisomia modifică ereditatea caracteristicilor afectate determinînd formarea altor raporturi de segregare, comparativ cu organismele disomice normale. Astfel se știe că, în cazul unei perechi de gene alele *Aa*, se produc două tipuri de gameți 1/2 *A* : 1/2 *a*, iar la autopolenizare se obțin genotipurile: 1/4 *AA* : 2/4 *Aa* : : 1/4 *aa* și o segregare fenotipică de 3 : 1. Trisomicul primar *AAa* produce însă 4 grupe de gameți femeli: două tipuri haploide — *A* și *a* și două tipuri cu un extracromozom — *Aa* și *AA*, în raportul 2*A*, 2*Aa*, 1*AA*, 1*a* și două grupe de gameți masculi haploizi — 2*A* : 1*a*. La autopolenizarea unui asemenea trisomic în F_2 va rezulta un raport de segregare fenotipică de 17*A* : 1*a*.

Trisomicii primari cu genotipul *Aaa* vor produce următoarele 4 tipuri de gameți femeli în urma segregării întîmplătoare a celor 3 cromozomi și anume: 1*A* : 2*a* : 2*Aa* : 1*aa*. Aceste tipuri de gameți funcționează normal, deoarece gameții femeli tolerează trisomia. Gameții masculi nu tolerează trisomia, ca urmare aceștia sînt funcționali cînd au o constituție cromozomică normală, fie *A*, fie *a*. Unirea la fecundare a acestor gameți determină un raport general de segregare de 3 : 1. Astfel, dacă alela *A* determină culoarea roșie a florilor, iar alela *a* culoarea albă, în descendență trisomicului primar *Aaa* are loc segregarea în raportul 12 roșu : 6 alb.

Tetrasomia ($2x+2$) apare datorită nondisjuncției perechilor de cromozomi în meioză sau mitoză. Fenomenul este prezent la diferite specii de plante și animale.

Tetrasomia poate fi produsă experimental în urma autofecundării sau încrucișării trisomicilor. Tetrasomia a fost studiată și indusă de către *E. R. Sears* (1954) la *Triticum aestivum* ($2n=42$, $n=21$). Acesta a reușit să izoleze seria completă de 21 de tetrasomici ($2n=$ $=42+2$), pentru fiecare din cromozomii haploizi ai

grîului. Tetrasomicii se deosebesc între ei atît citologic, cît și morfologic mai ales în privința caracteristicilor spicului.

OLIGOSOMIA se caracterizează prin absența unui membru (*monosomie* $-2x-1$) sau a ambilor membrii (*nulisomie* $-2x-2$), dintr-o pereche de cromozomi.

Monosomia ($2x-1$). Monosomicii sînt diploizi care au pierdut un membru al unei perechi de cromozomi ($2n-1$). La organismele diploide monosomia are, în general, efecte letale. S-a observat că monosomia provoacă un dezechilibru genetic mai profund chiar decît monoploidia care este totuși prezentă la specii diploide (porumb, orz, tomate etc.). Monosomicii supraviețuiesc și se pot obține cu destulă ușurință la speciile poliploide. Explicația constă în faptul că la speciile poliploide pierderea unui cromozom este suplinită de cromozomii homeologi situați în ceilalți genomi.

Monosomia a fost cercetată de genetistul *R. E. Clausen* și *D. Cameron* (1947) care au reușit să izoleze și să descrie la specia alotetraploidă *Nicotiana tabacum* ($2n=4x=48$) monosomicii corespunzători celor 24 perechi de cromozomi. Ei au stabilit că cele 24 linii monosomice pot fi recunoscute fenotipic și citologic. La grîul hexaploid *Triticum aestivum* ($2n=6x=42$), *E. R. Sears* (1939, 1953), a obținut seria completă de 21 monosomici ($2n-1$) pentru toți cei 21 cromozomi ai soiului Chinese Spring.

Monosomicii prezintă în profaza și metafaza meiotică un univalent care este tocmai membrul prezent al cromozomului afectat de mosomie. În fazele următoare ale meiozei, acest univalent se separă la un pol sau altul (uneori se pierde în citoplasmă), formîndu-se gameți n și $n-1$. Gameții femeli $n-1$ supraviețuiesc în proporție de aproape 50% în timp ce gameții masculi suportă rareori monosomia.

Nulisomia. Nulisomicii sînt organisme la care lipsesc ambii membri ai unei perechi de cromozomi ($2n-2$). Nulisomicii pot apărea întîmplător în natură. Ei sînt viabili la speciile poliploide. Experimental nulisomicii

pot fi obţinuţi în urma autopolenizării monosomicilor diferitelor specii poliploide (tutun, grîu comun, ovăz).

La grîul hexaploid *T. aestivum*, *E. R. Sears* a obţinut o serie de 21 linii nulisomice.

IMPORTANŢA ANEUPLOIZILOR. Organismele aneuploide au o mare importanţă pentru cercetările de genetică. Prin utilizarea aneuploizilor este posibilă stabilirea grupelor linkage, şi a rolului genetic al diverşilor cromozomi. Acest fapt este posibil deoarece prezenţa în plus a unui membru sau a doi membri la o pereche de cromozomi poate intensifica exprimarea fenotipică a genelor situate în cromozomul implicat, după cum lipsa unui membru sau a ambilor membri dintr-un cromozom reduce sau anulează expresia genelor din cromozomul respectiv. Pe baza aceasta sînt relevate genele marker (cu efecte fenotipice vizibile) din fiecare cromozom. Ca urmare, se impune crearea liniilor aneuploide pentru fiecare cromozom din specia ce urmează a fi supusă analizei genetice (pe baza metodei aneuploidiei).

Analiza genetică cu ajutorul aneuploidiei a fost efectuată la grîu, la tutun şi la alte specii. De exemplu, *Barbara McClintock* (1955) a utilizat trisomicii în vederea relevării unor grupe linkage la porumb. În scopul realizării acestui obiectiv a încrucişat succesiv cele 10 linii trisomice cu plante homozigote pentru anumite gene marker recesive. În cazurile în care în F_2 segregarea se abătea puternic de la raportul 3 : 1, a fost trasă concluzia că gena mutantă respectivă era localizată în cromozomul afectat de trisomie. Astfel, pe baza studiului aneuploizilor a fost stabilită apartenenţa genelor la diverşi cromozomi şi a putut fi evidenţiat numărul genelor care guvernează diferitele caracteristici calitative şi cantitative.

Aneuploidia poate fi transferată de la un donator la orice formă dintr-o specie dată. Pentru aceasta se aplică metoda backcross de încrucişare însoţită de selecţie fenotipică şi cromozomică (la microscop), precum şi de polenizare controlată. Tocmai posibilitatea transferării aneuploidiei şi, ca urmare, crearea seturilor de linii

monosomice, nulisomice, trisomice și tetrasomice pentru toți cromozomii unor forme cultivate a contribuit la elaborarea și dezvoltarea unor noi metode de ameliorare deosebit de eficiente.

Aceste metode, din care amintim *adiția de cromozomi* și *substituirea de cromozomi*, au creat premisele efectuării „microchirurgiei" la nivel cromozomal. Astfel, aneuploidia, pe lîngă stabilirea locilor genelor în cromozom pe baza asocierii acțiunii genei cu un cromozom particular, permite și manipularea diverșilor cromozomi sau a *ingineriei genetice* la nivelul unui cromozom.

Adiția de cromozomi constă în transferul unui membru cromozomal sau a perechii de cromozomi de la o specie în garnitura cromozomală a unei forme dintr-o specie cultivată. Formele cu o astfel de constituție genetică denumite *linii de adiție*, prezintă diferite însușiri pozitive. Primele linii de adiție au fost obținute la grîu de *J. G. O'Mara* (1940), prin încrucișarea amfiploidului *Triticale* ($2n = 56$) cu *Triticum aestivum* ($2n = 42$). La descendenți au fost depistați indivizi cu $2n = 42 + 2$ cromozomi, adică genotipuri care pe lîngă cei 42 de cromozomi de la grîu conțineau doi cromozomi de la secară. (fig. 64).

Teoretic sînt posibile 7 linii diferite de adiție a cromozomilor de secară la grîu (atîtea linii cîți cromozomi în stare haploidă are secara sau $n = 7$). Fiecare pereche de cromozomi de secară adițională are un efect caracteristic asupra fenotipului grîului. De exemplu, adiționarea cromozomului II al secarei accelerează viteza de creștere a grîului în stadiul tînăr, mărește dimensiunile frunzelor, le intensifică culoarea, modifică conformația spicului și culoarea bobului etc.

Adiția de cromozomi de secară la genomul grîului hexaploid *T. aestivum*, s-a realizat după schema următoare: un anumit soi de grîu hexaploid ($2n = 6x = 42$) a fost încrucișat cu secară diploidă ($2n = 2x = 14$), iar hibridul steril F_1 a fost colchicinizat pentru a produce un amfiploid *Triticale* ($2n = 56$). Amfiploidul a fost backcrossat cu grîu pentru a obține o formă hibridă cu $2n = 49$ cromozomi, care cuprind întreg complementul cromozomal al grîului (21 perechi de cromo-

zomi) și jumătate din complementul cromozomal al secarei (7 cromozomi neperechi). Formele hibride cu $2n=49$ au fost backcrossate cu grîul hexaploid, iar

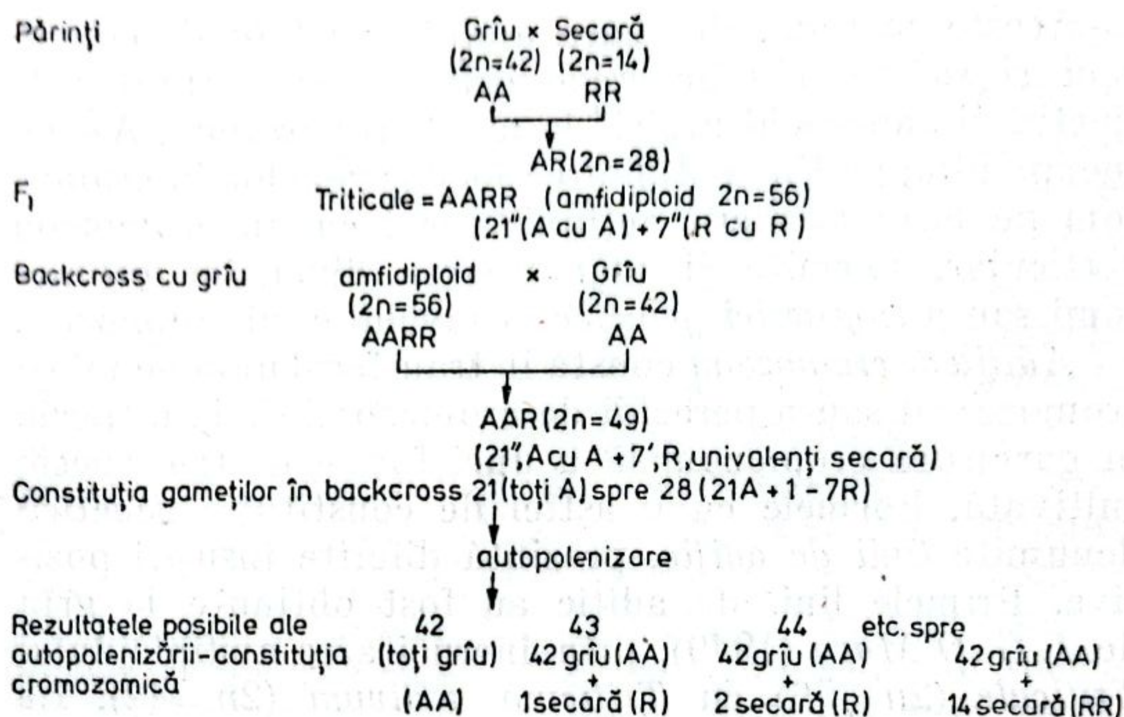


Fig. 64. Schema adăugării sau adiției unui cromozom de la secară la grîu (metoda implică hibridarea intergenerică, amfiploidizarea, backcrossul, autopolenizarea și studiul microscopic).

din cadrul descendenței au fost selecționate citologic forme cu $2n=43$ ($2n=42$ cromozomi de la grîu $+1$ cromozom de secară). Prin autopolenizare se obțin linii de adiție cu $2n=44$, adică adiția unei perechi de cromozomi de la secară, la complementul cromozomal al grîului hexaploid (rezultă din unirea unor gameți $n+1$ sau $21+1 \times 21+1$; formele cu $2n=42$ cromozomi se elimină).

La grîu au fost realizate și adiții de cromozomi de la genuri mai îndepărtate (*Agropyron*, *Haynaldia* etc.).

Adiția cromozomală este o metodă frecvent utilizată în programele de ameliorare. Cu ajutorul ei pot fi îmbunătățite unele însușiri esențiale ale plantelor de cultură ca: rezistența la secetă, rezistență la iernare, rezistența la boli și dăunători, conținut ridicat de proteine și aminoacizi etc. De asemenea, liniile cu cromo-

zomi adiţionaţi sînt folosite şi pentru inducerea unor translocaţii limitate la cromozomul adiţionat şi la cromozomul parţial homolog (homeolog) din forma recipientă ce urmează a fi ameliorată.

S-a constatat însă că adiţia cromozomală are unele deficienţe. Prezenţa cromozomilor străini poate determina modificări relativ importante ale metabolismului organismelor receptoare. Incompatibilitatea dintre cromozomii adiţionaţi şi genomul receptor este o cauză care determină instabilitatea liniilor de adiţie.

Substituirea de cromozomi este metoda prin care se înlocuieşte unul sau mai mulţi cromozomi ai complementului cromozomal al unei specii cu un număr egal de cromozomi homologi, proveniţi de la un alt genom. Se realizează astfel forme cu o nouă valoare de recombinare. Principial, pentru că numai la speciile poliploide cu genomi (cromozomi) homeologi, monosomicii şi nulisomicii sînt viabili, metoda substituţiei cromozomale se aplică la aceste specii.

Metoda substituirii cromozomilor a fost elaborată de *E. R. Sears* (1953) la *Triticum aestivum*. Liniile de substituţie intraspecifică se produc în scopul incorporării unor caracteristici valoroase de la alţi genitori, în scopul ameliorării genitorului recipient.

Substituţia intergenerică ca metodă citogenetică pentru crearea unor noi genotipuri a fost dezvoltată de către *R. C. Jenkins* (1957). El a iniţiat un program complex de transfer al cromozomilor de secară (specie donor) în cariotipul grîului hexaploid *T. aestivum* (specie receptor). Iniţial a produs linii monosomice (cu $2n=42-1$) şi nulisomice (cu $2n=42-II$) la soiul de grîu, ce urma să fie ameliorat şi 7 linii de adiţie grîu-secară, care constituie donorii în programul de substituţie.

Metoda substituirii de cromozomi se aplică în special în vederea ameliorării rezistenţei la boli a unor soiuri din specii poliploide.

Folosirea liniilor cu cromozomi substituiţi este deosebit de eficientă în încrucişările intraspecifice, cînd ambele genotipuri, recurentul (recipientul), cît

şi nerecurentul (donatorul), posedă gene linkage, respectiv caracteristici agronomice nedăunătoare.

Substituirea cromozomică interspecifică are unele aspecte negative: uneori se pierd gene valoroase ale speciei receptoare, situate în cromozomul substituit, iar o dată cu incorporarea cromozomului străin, pe lîngă gene valoroase, utile, pot fi incluse şi unele gene nedorite, cu efecte fenotipice negative.

SCHIMBAREA STRUCTURII CROMOZOMILOR — DISLOCAŢIA

Cariotipul ca şi structura cromozomilor sînt, în general, constante de la o generaţie la alta. Această constanţă se datorează capacităţii cromozomilor de a se duplica longitudinal la fiecare diviziune celulară. Constanţa structurii cromozomilor, a numărului şi poziţiei genelor a asigurat stabilitatea speciilor şi ca urmare elaborarea hărţilor cromozomale.

Uneori în mod spontan sau experimental, structura cromozomilor se poate schimba. Schimbările care afectează structura cromozomilor sînt denumite *dislocaţii* sau *aberaţii structurale cromozomale*.

Dislocaţiile au la bază fenomenul de fragmentare transversală a cromozomilor urmat de fenomenul de reunire a fragmentelor cromozomice prin capetele lor rupte la unul din capetele rupte ale celorlalţi cromozomi.

Schimbările structurale pot apărea în cadrul unui singur membru al unui cromozom, la ambii membri ai unei perechi, precum şi între cromozomi nehomologi. Consecinţa ruperii şi reunirii fragmentelor cromozomale într-o altă ordine decît cea iniţială este uneori formarea unor cromozomi lipsiţi de centromer (cromozom acentric) sau cromozomi cu doi centromeri (cromozom dicentric).

Dislocaţiile pot afecta *numărul de gene* dintr-un cromozom sau pot afecta *aranjarea genelor* în cromozom.

Schimbările *în numărul genelor* dintr-un cromozom sînt reprezentate de fenomenele de: *deleție* sau *deficiență* (pierderea unui segment de cromozom terminal sau intercalar) și *duplicație* (adăugarea unui segment de cromozom homolog).

Schimbările *în aranjarea genelor* dintr-un cromozom sînt reprezentate de fenomenele de: *inversiune* (alocarea unui segment de cromozom homolog într-o ordine inversă) și *translocație* (schimbul reciproc al unor segmente cromozomale între doi cromozomi nehomologi).

Schimbările structurale cromozomale apar spontan sau pot fi induse. În natură, frecvența dislocațiilor este de una la 500 diviziuni celulare. Frecvența lor crește în urma iradierii sau tratamentului cu unii agenți chimici sau fizici cu rol dislocant.

Aberațiile structurale cromozomale se pot evidenția atît genetic cît și citologic. Fiecare din aberații poate avea efecte semnificative nu numai asupra morfologiei cromozomilor, ci și asupra comportării în meioză, producînd în același timp și alterări fenotipice.

Dislocațiile cromozomale au avut un rol important în evoluția viețuitoarelor.

DELEȚIA SAU DEFICIENȚA

Deleția sau deficiența constă în pierderea unui segment dintr-un cromozom sau mai mulți cromozomi. În acest caz se separă un fragment lipsit de centromer și care în consecință degenerează. Cromozomul care a pierdut un fragment este deficient. Dacă aceeași deficiență afectează ambii membri ai unei perechi de cromozomi homologi, deleție homozigotă, ea va determina absența genelor respective, cauzînd tulburări ale embrionului care poate fi neviabil.

Delețiile pot fi terminale sau intercalare (interstițiale). Deleția terminală constă în ruperea unui segment cromozomal terminal (poate fi heterozigotă sau homozigotă), urmată de pierderea acestuia.

Deleție terminală heterozigotă $\frac{ABCDEF}{abcdefghi}$, în care se pierde un segment cu alele dominante, de exemplu *GHI*, creează condiții pentru manifestarea alelelor recesive *ghi*. Aceasta indică fenomenul de *semidominanță*.

Deleția intercalară apare prin două rupturi într-un cromozom, urmate de reunirea capetelor rupturii (minus segmentul pierdut), de exemplu $\frac{AB\,..\,EF}{abcdef}$. Deficiențele intercalare se evidențiază prin conjugarea în meioză a unui cromozom deficient cu altul normal. În acest caz, ca urmare a tendinței alelelor din cei doi cromozomi homologi de a se uni, la cromozomul homolog nedeficient, segmentul normal (în plus), formează o buclă care permite detectarea deficienței (fig. 65).

Prin pierderea de material genetic și în funcție de cantitatea și calitatea acestuia, delețiile pot avea efecte dăunătoare asupra organismului. Astfel, delețiile homozigote sînt rar viabile și numai pentru cantități foarte mici de material genetic (cu rol genetic neesențial).

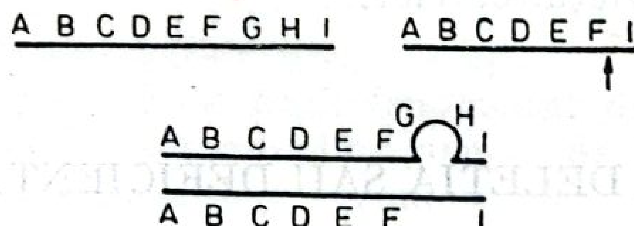


Fig. 65. Ilustrarea mecanismului pentru detectarea deficienței intercalare; cromozomul normal (sus-stînga); cromozomul deficient pentru genele *GH* (sus-dreapta); pereche formată dintr-un cromozom normal (cu buclă) și cromozomul deficient pentru segmentul *GH* (jos).

Deficiențele în stare heterozigotă la organismele diploide sînt și ele limitate. Astfel, în timp ce la unele organisme pierderea unui cromozom homolog dintr-o

pereche de cromozomi, cum este porumbul, Datura etc., nu este letală, la Drosophila, pierderea unui mic segment dintr-un membru al unei perechi de cromozomi este letală, chiar cînd celălalt membru homolog este intact. La organismele poliploide deficiențele nu au efecte letale, deoarece prezența mai multor perechi homologe sau parțial homologe de cromozomi suplinește segmentele cromozomale pierdute.

Obișnuit, deficiențele sînt transmise numai pe cale maternă deoarece gameții masculi afectați de deficiență, fie că sînt neviabili, fie că nu reușesc să fecundeze gametul femel.

În general, multe deleții au efecte dăunătoare sau letale în funcție de cantitatea și calitatea materialului genetic pierdut. Delețiile pot produce schimbări morfologice detectabile, care se moștenesc ca trăsături dominante. Deci, delețiile pot fi detectate genetic prin expresia genelor recesive în indivizii heterozigoți (semidominanță). Pe această trăsătură se bazează folosirea deficiențelor în localizarea genelor recesive.

DUPLICAȚIA

Duplicația constă din adăugarea unui segment cromozomal, la unul dintre membrii perechii de cromozomi homologi. Datorită duplicației, o anumită genă sau anumite gene sînt reprezentate în aceeași celulă de trei ori. De exemplu, dacă cromozomul normal este ABCDEF, cromozomul cu segmentul CD duplicat va avea structura ABCDCDEF.

În cazul în care segmentul duplicat are centromer va rezulta un cromozom cu doi centromeri, deci un cromozom dicentric. Unele fragmente cromozomale care posedă centromer pot să nu se atașeze la alți cromozomi rămînînd independente și determinînd apariția de extracromozomi (fig. 66).

Obișnuit deleția și duplicația pot apărea concomitent dacă are loc un crossing over inegal, cînd chiasma se formează între regiuni nehomologe ale cromatide-

lor nesurori. Astfel, cînd chiasma în loc să apară în ambele cromatide între locii *BC* și *bc*, apare într-o cromatidă între locii *DE*, iar în cealaltă cromatidă între locii *bc* și anume: $\begin{array}{c} ABCDEF \\ \hline / \\ \hline abcdef \end{array}$ rezultă o cromatidă cu dupli-

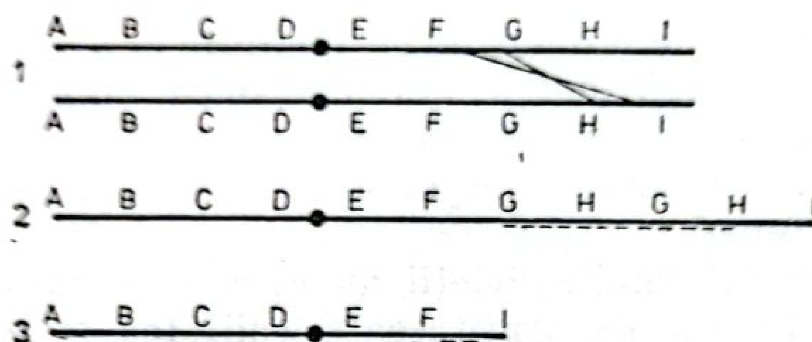


Fig. 66. Crossing over inegal (1). *C.o.* inegal determină apariția duplicației într-o cromatidă (2) și a deficienței în cealaltă cromatidă (3).

cație: *ABCDcdef* și o cromatidă deficientă pentru locii *CD*: *abEF*

Prin mutație, unele din genele duplicate se pot schimba față de forma originală, adăugîndu-se la suma genelor speciei respective.

Duplicațiile sînt mai puțin letale decît delețiile. Ele pot fi decelate mai ușor la plante. În meioză, la conjugarea unui cromozom normal cu un cromozom cu duplicație, se produce o buclă la nivelul segmentului duplicat.

Studiul cromozomilor uriași din glandele salivare de la *Drosophila melanogaster* a evidențiat faptul că în stare diploidă normală acești cromozomi conțin sectoare adiacente duplicate. Acestea funcționează ca pseudoalelele, cooperînd una cu alta în expresia efectului de poziție. În general, prezența duplicațiilor este evidențiată de existența genelor multiple (gene poligenice, identice și cu efecte cumulative).

În condiții naturale duplicațiile pot apărea, prin interschimbări între cromozomi homologi și parțial homologi. Apariția duplicației presupune ruperea si-

multană a doi cromozomi, deoarece numai cromozomul afectat de rupturi se poate uni cu alte segmente cromozomale. Cromozomii rupţi pierd capacitatea de reunire după un anumit timp.

Gameţii cu duplicaţie şi deficienţă din schimbări heterozigote, în care segmentele schimbate sînt scurte, pot produce descendenţi viabili.

Duplicaţiile au jucat un rol important în evoluţia cromozomilor la diferite specii de plante şi animale, precum şi în schimbarea acţiunii genei datorită efectului de poziţie. Pe lîngă acestea, trebuie menţionat faptul că organismele cu anumite segmente de cromozomi în duplicat pot produce un nou fenotip, dominant, care se poate caracteriza printr-un complex deosebit de caracteristici ereditare.

Posibilitatea dublării la plante și animale a anumitor gene, cunoscute pentru acțiunea lor asupra fenotipului, de exemplu, prin controlul rezistenței la boli sau paraziți, a unui conținut mai ridicat în anumite substanțe etc., prezintă un interes major deoarece poate asigura o sporire a rezistenței, a capacității de sinteză etc.

Duplicația unor gene sau segmente cromozomale se poate realiza prin iradierea unor celule diploide, fie homozigote, fie heterozigote obținute prin hibridare, urmată de selecția descendenților cu duplicații utile în anumite grupe linkage.

INVERSIUNEA

Inversiunea presupune inserarea în cromozomi a unei secvențe de gene într-o ordine inversată. În acest caz, un segment de cromozom se detașează în urma a două ruperi și apoi se realocă în așa fel încît secvența de gene este inversată. De exemplu cromozomul normal are structura: *ABCDEFGH*, iar cromozomul cu inversiune va avea structura: *ABFEDCGH*. Inversiunea poate fi *heterozigotă* (cînd afectează o singură cromatidă) și

homozigotă (cînd afectează ambele cromatide ale unui cromozom homolog).

Obişnuit, inversiunile apar în profaza meiozei, în urma ruperii cromatidelor sau cromozomilor. Ruperea este precedată de apariţia unei bucle care inversează ordinea genelor. Inversiunea modifică relaţiile de linkage între genele cromozomului iar în stare heterozigotă împiedică apariţia crossing overului deoarece între regiunile inversate şi cele neinversate din cromozomul homolog nu are loc sinapsa.

Cînd rearanjamentul unei secvenţe de gene este limitat la braţul unui cromozom se consideră că este o *inversiune paracentrică*, iar dacă include şi centromerul rezultă o *inversiune pericentrică*.

Inversiunea apare cu o mare frecvenţă la populaţiile sălbatice de *Drosophila*. Astfel, în cromozomii uriaşi din glandele salivare ale Drosophilei au fost descoperite numeroase inversiuni.

Inversiunile heterozigote se observă în pachinem în cromozomii uriaşi din glandele salivare prin sinapsa regiunilor cromozomale homologe şi lipsa sinapsei în regiunile nehomologe (datorită inversiunii heterozigote).

În cazul inversiunii paracentrice heterozigote, datorită faptului că în meioză locii homologi tind să conjuge, cromozomul afectat de inversiune face o buclă prin răsucire, în timp ce cromozomul homolog normal, fără inversiune, formează o buclă corespunzătoare cromozomului inversat, ceea ce determină ca alelele homologe să ajungă în aceeaşi poziţie.

La inversiunea paracentrică, centromerii celor doi cromozomi se găsesc în afara buclei, fiind uniţi printr-o punte de cromatină. În asemenea situaţii, o parte din gameţi sînt normali, în timp ce alţii sînt neviabili.

În inversiunile pericentrice heterozigote, în meioză, centromerul ocupă un loc în buclă. Din această cauză vor rezulta cromozomi cu duplicaţii şi deficienţe. Ca urmare, gameţii cu asemenea cromozomi vor produce zigoţi neviabili.

Inversiunile au avut rol important în evoluţia unor specii de plante şi animale, deoarece au contribuit la variabilitatea genetică.

TRANSLOCAŢIA

Translocaţia constă în ruperea a doi cromozomi nehomologi şi schimbul reciproc al segmentelor. Translocaţia este deci întotdeauna reciprocă: în schimbul segmentului cedat, cromozomul capătă un alt segment nehomolog. Datorită faptului că translocaţia reciprocă poate să afecteze cromozomii în diferite locuri, segmentele de schimb pot fi egale sau inegale. Astfel, în urma alocării segmentelor, un cromozom poate deveni mai lung în timp ce celălalt se scurtează.

Fenomenul translocaţiei se petrece în timpul meiozei dar el poate fi indus în orice moment al ciclului celular prin tratamente cu factori translocanţi în primul rînd prin iradieri cu raze X.

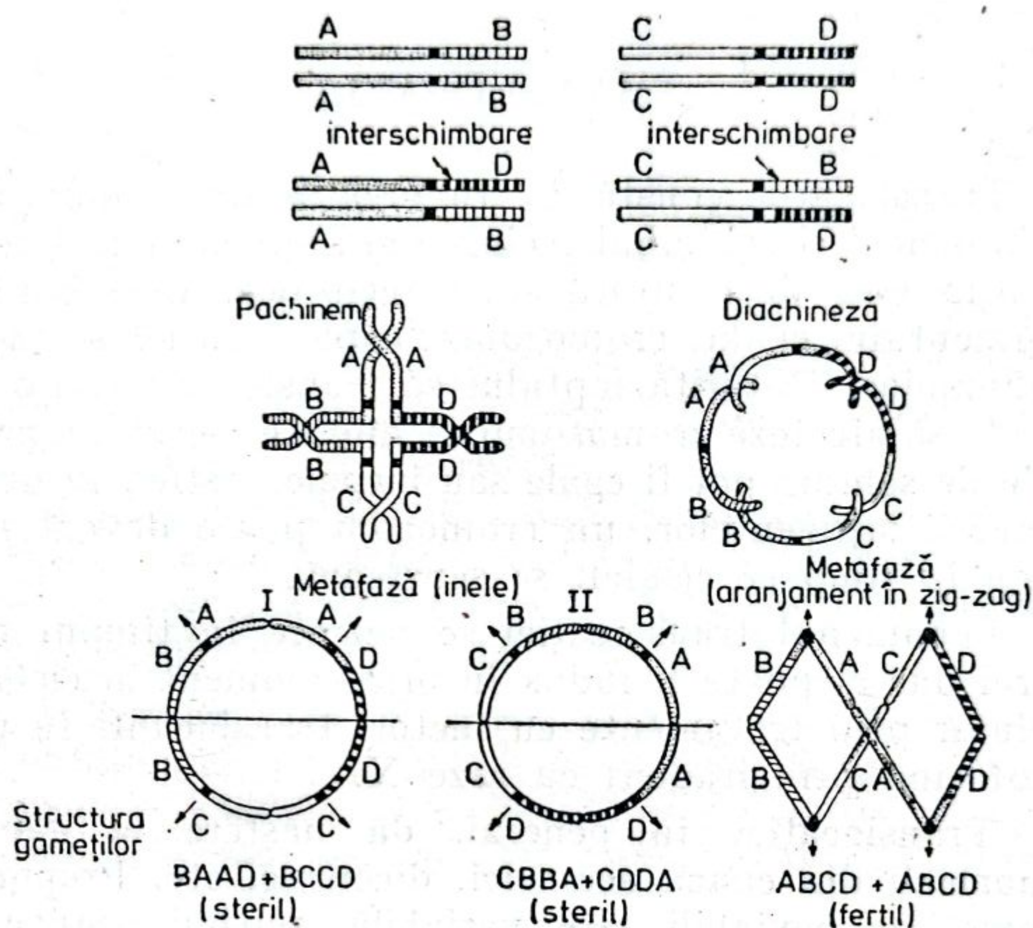
Translocaţia, în general, dă naştere la gameţi anormali din cauza acentriei, dicentriei etc. Proporţia gameţilor neviabili este variabilă, putînd ajunge la 60–70% din gameţi (fig. 67).

Alături de tipul obişnuit de translocaţie care afectează doi cromozomi nehomologi, pot exista şi alte tipuri. Aşa este *translocaţia succesivă* care constă în afectarea succesivă reciprocă a trei cromozomi nehomologi şi *translocaţia complexă* care constă în ruperea tuturor cromozomilor şi transferarea fragmentelor între ele. Cînd mai mulţi cromozomi sînt afectaţi de translocaţie, în meioză, aceştia se dispun sub formă de inel, lanţ etc. Translocaţia complexă sau multiplă este caracteristică pentru unele specii de *Oenothera*, precum şi pentru unii hibrizi interspecifici şi intergenerici.

Translocaţiile homozigote se comportă ca şi cromozomii normali din care ele provin, cu deosebirea că s-au format noi grupe linkage. Translocaţiile heterozigote se recunosc prin configuraţii caracteristice (forma

cifrei 8 sau de cruce) în profaza I și metafaza I a meiozei.

Translocaţiile au fost studiate la porumb, orz, mazăre, grîu etc. De asemenea, translocaţiile au fost cer-



Efectele translocației heterozigote (între doi cromozomi nehomologi) asupra meiozei și structurii gameţilor. Inelele deschise în ambele cazuri de separare a cvadrivalenţilor produc gameţi sterili (I — centromeri homologi migrează spre poli opuşi; II — centromeri nehomologi migrează spre poli opuşi). În cazul cînd cvadrivalenţii sînt dispuşi într-un inel în zig-zag se formează gameţi viabili.

cetate și la microorganisme cum sînt: *Neurospora*, *Aspergillus* etc.

La *Drosophila*, fenomenul translocaţiei a fost descoperit de *G. B. Bridges* (1923) și a fost studiat de *C. Stern* (1926). La *Drosophila melanogaster* au fost induse translocaţii cu ajutorul razelor X (*H. J. Muller*, 1930).

Fuziunea centromerică sau centrică este un tip special de translocaţie care afectează întregul braţ eucromatic al cromozomilor acrocentrici şi care pare specifică animalelor. Mecanismul translocaţiei de acest tip constă probabil, în producerea a două rupturi cromozomale în regiunile pericentromerice, una în braţul scurt şi cealaltă în braţul lung al celor doi cromozomi nehomologi, urmată de eliminarea unui centromer (de la cromozomul cu ruptura în braţul lung) şi alipirea braţului lung rămas fără centromer la ruptura braţului scurt al celuilalt cromozom. Se consideră că translocaţia de tip fuziune centrică joacă un rol însemnat în evoluţia regnului animal.

La om, prima translocaţie a fost recunoscută în 1959, de *J. Lejeune* şi colaboratorii săi. S-a constatat că în celulele unui copil cu anomalii congenitale ale coloanei vertebrale se găsesc doar 45 cromozomi, din care unul era mai lung decît homologul său. De aici, s-a tras concluzia că lungimea deosebită a cromozomului se datoreşte alocării unui fragment de la alt cromozom, în timp ce partea rămasă a fost eliminată.

Prezenţa translocaţiilor la om a fost relevată într-o serie de anomalii ereditare. Translocaţiile afectează în mod frecvent grupele de cromozomi acrocentrici ai cariotipului uman, adică grupele D şi G. Mecanismul de producere a acestor translocaţii constă probabil, în fuziunea centromerică.

Studiul citologic şi genetic al translocaţiilor are mare importanţă teoretică, datorită faptului că asemenea cercetări pot evidenţia o serie de aspecte ale interrelaţiilor dintre gene şi cromozomi. Aceste studii contribuie la alcătuirea hărţilor genetice şi la cunoaşterea poziţiei şi funcţiilor genelor localizate în diverse grupe linkage prin stabilirea efectelor produse asupra segregării descendenţei, a crossing overului, a rolului centromerului, a comportării segmentelor de cromozomi. În urma unei translocaţii pot apărea extracromozomi sau se poate reduce numărul cromozomilor unui cariotip.

Translocaţiile induse capătă importanţă tot mai mare în activitatea de ameliorare a plantelor. Astfel,

se consideră că translocaţia poate fi utilizată în fixarea heterozisului (translocaţia inhibă conjugarea şi ca urmare nu mai are loc segregarea în F_2).

TRANSLOCAŢIA ŞI TRANSFERUL DE GENE constă în translocarea unui segment dintr-un cromozom de la o specie sălbatică, care posedă alela dorită, cu un segment corespunzător dintr-un cromozom homolog de la un soi sau linie care urmează să fie ameliorată.

În acest scop se foloseşte de obicei hibridarea îndepărtată, urmată de inducerea unor dislocaţii (prin iradiere sau cu ajutorul altor factori fizici şi chimici) şi selecţia descendenţilor valoroşi. Segmentele cromozomale aparţinînd aceluiaşi grup linkage se asociază de obicei între ele (în circa 90% din cazuri). Uneori, însă ele pot cuprinde şi anumite segmente străine, în schimbul unor segmente cedate.

Această metodă a fost aplicată de *F. R. Sears* (1956) pentru a transfera grîului hexaploid gena de rezistenţă la rugina brună *(Puccinia recondita)* de la *Aegilops umbellulata*. Iniţial, s-a efectuat o hibridare între *Triticum dicoccoides* ($2n=28$, cu genomii AABB) cu *Aegilops umbellulata* ($2n=14$, cu genomii C^uC^u). Apoi prin tratarea acestui hibrid cu colchicină s-a obţinut un amfiploid cu constituţia genomică $AABBC^uC^u$, care a fost încrucişat cu *T. aestivum*. Descendenţa obţinută a fost backcrossată cu polen de la *T. aestivum* în scopul refacerii genomului grîului (AABBDD). Una din plantele selecţionate asemănătoare formei paterne rezistentă la rugina frunzei, era un trisomic avînd 42 cromozomi de la grîu şi 1 izocromozom de la *Aegilops* (deci $2n=42+1$ cromozomi). La această plantă, polenul a fost iradiat cu raze X, pentru inducere de translocaţii între cromozomii grîului şi izocromozomul de la *Aegilops*. În final s-a obţinut o plantă cu o translocaţie intercalară în apropierea centromerului, care poseda locusul de rezistenţă de la *Aegilops* şi toţi locii de la grîu (minus locusul cedat în schimbul locusului de la *Aegilops*). Prin autopolenizare s-a obţinut o nouă linie de grîu denumită

S-615 identică cu soiul de grîu folosit în încrucișare, dar care era foarte rezistentă la rugina brună.

O tehnică asemănătoare poate fi utilizată pentru transferul la orice organism a unor gene-alele de la alte specii.

Una din principalele particularități ale dislocațiilor este caracterul lor ireversibil. Spre deosebire de schimbările intervenite în numărul de cromozomi (euploidie și aneuploidie), care pot apare în mod repetat și se pot elimina în descendență, schimbarea structurii cromozomilor (în cazul cînd schimbarea este viabilă) este tot atît de stabilă din punct de vedere ereditar, ca și structura inițială din care a apărut.

SCHIMBAREA STRUCTURII GENELOR —MUTAȚIA GENICĂ

Mutația este o schimbare chimică specifică a genei care se transmite ereditar. De fapt mutația este una dintre proprietățile fundamentale ale genei. Istoria mutației este tot atît de veche ca și gena însăși. Practic, toate genele sînt afectate de mutații și deci mutația apare în toate organismele, fiind sursa de bază a variațiilor ereditare naturale și temelia pe care s-a clădit evoluția viețuitoarelor.

Noțiunea de mutație a fost introdusă de *Hugo de Vries* (1901) pentru a defini schimbările bruște, mari și mici, ale genotipului. Observațiile sale au fost efectuate asupra plantei *Oenothera lamarckiana*. Pe baza acestor observații, *H. de Vries* a elaborat *teoria mutaționistă*, cu ajutorul căreia el a explicat evoluția lumii vii.

Studiul citologic al schimbărilor ereditare apărute la *Oenothera* și la alte organisme, au relevat faptul că unele erau asociate cu dublarea numărului de cromozomi sau cu prezența unui cromozom în plus față de setul normal. În alte cazuri schimbările ereditare erau asociate cu unele aberații structurale cromozomale vizibile microscopic. O mică parte din schimbările ereditare nu erau asociate cu vreo schimbare detectabilă,

microscopic în materialul ereditar. În fața acestor evidențe, geneticștii au clasificat schimbările ereditare în funcție de materialul ereditar afectat. Astfel, variabilitatea eredității poate fi produsă de fenomenele de: *ploidie* (euploidie și aneuploidie), *dislocație* (deleție, duplicație, inversiune și translocație) și *mutație genică*.

Primul care a asociat noțiunea de mutație de schimbarea structurii chimice submicroscopice a genei a fost *Th. H. Morgan*, în jurul anului 1910.

Observațiile și cercetările referitoare la mutațiile genice au fost mult aprofundate după anul 1927, odată cu inducerea de către *H. J. Muller* a unor mutații genice la *Drosophila* prin folosirea razelor X. Ulterior, au fost descoperiți și alți factori mutageni, care au un mecanism de acțiune foarte variat, însă în ansamblu toți afectează structura acizilor nucleici din care sînt alcătuite genele din organismele tratate.

Descoperirea structurii macromoleculei de ADN de către *J. D. Watson* și *F. H. C. Crick* (1953) a făcut posibilă relevarea mecanismului molecular al mutației. Acești cercetători consideră că mutația reprezintă, de fapt, o „eroare" în succesiunea nucleotizilor din molecula de acizi nucleici. Prin replicare, noua structură chimică a genei mutante se va transmite descendenților, care vor moșteni caracteristicile noi ale părintelui.

TIPURI DE MUTAȚII GENICE ȘI CARACTERISTICILE LOR

În general, este dificil de a evidenția, microscopic, tipul diverselor schimbări ce afectează structura materialului genetic. Ca urmare, în diverse cazuri este greu de precizat dacă este vorba de o schimbare intra sau extragenică. (Uneori diverse schimbări extragenice simulează mutația genică cum sînt: efectul de poziție, deficiențele și translocațiile mici, separarea și izolarea componentelor unui locus complex etc.).

Schimbările din interiorul genei se petrec la nivelul nucleotizilor din ADN, afectînd numărul, tipurile

sau secvența lor. Astfel, pot avea loc substituții de nucleotizi sau de baze (numite tranziții sau transversii), inserții, inversii sau transpoziții de nucleotizi etc.

Rezultatul mutației genice sînt stările alternative ale unei gene, deci *alelele*. În funcție de manifestarea lor în stare heterozigotă, mutațiile pot fi *dominante* și *recesive*. Mutațiile dominante se manifestă chiar în generația în care s-au produs prin determinarea unui fenotip deosebit de fenotipul determinat de alela de tip sălbatic.

Pentru evidențierea mutațiilor recesive sînt necesare încrucișări experimentale deoarece ele se manifestă doar în stare homozigotă, începînd deci cu generația a doua.

La om, ca și la toate organismele alogame, detectarea mutațiilor este dificilă, din cauza stării heterozigote. Se pot observa direct numai efectele mutațiilor dominante, în timp ce mutațiile recesive se pot manifesta în cazul împerecherilor sau căsătoriilor consangvine cînd unele gene recesive mutante ajung în stare homozigotă.

După sensul în care are loc schimbarea genei, mutațiile pot fi *progresive* sau *înainte* și *înapoi* sau *regresive*. În cazul în care un organism trece printr-o mutație de la forma sălbatică la forma mutantă este vorba de o mutație progresivă, în timp ce revenirea formei mutante la forma sălbatică are loc printr-o mutație înapoi. Aceasta demonstrează că mutația nu reprezintă pierderi ireparabile ale materialului genetic, ci doar schimbări ale acestuia.

După tipul de celule în care apar, mutațiile pot fi *germinale* și *somatice*.

MUTAȚIILE GERMINALE. În celulele reproducătoare, mutațiile pot afecta gene localizate în cromozomii sexului, cînd este vorba de *mutații legate de sex* sau pot afecta gene din autozomi cînd sînt *mutații autozomale*.

Mutația genelor complet sex linkage cu X și Z (respectiv cu Y și W), acționează ca dominante la sexul heterogametic (XY și ZW; în care se găsesc în

stare hemizigotă). De exemplu, la tipul Drosophila, de determinare a sexului, fenotipul masculilor, iar la tipul Abraxas de determinare a sexului fenotipul femelelor evidenţiază orice mutaţie survenită în genele situate în aceşti cromozomi.

La femele din tipul Drosophila de determinare a sexului şi la masculi din tipul Abraxas mutaţiile recesive nu se manifestă deoarece se pot găsi în stare heterozigotă.

Mutaţiile autozomale dominante se manifestă în generaţia în care se produc, iar cele recesive se manifestă în generaţiile segregante în stare homozigotă. Sînt cazuri în natură cînd unele mutaţii recesive autozomale din cauza stării heterozigote nu se manifestă fiind eliminate.

MUTAȚIILE SOMATICE. Schimbarea structurii unor gene situate în nucleii celulelor corporale se numeşte mutaţie somatică. Mutaţiile somatice se transmit prin diviziune mitotică şi se manifestă cînd afectează unele structuri vizibile cum sînt mugurii, florile, areale diferit colorate ş.a.

Cînd mutaţiile somatice apar într-un stadiu foarte timpuriu de dezvoltare embrionară ele pot ocupa sectoare mai mari, mai uşor detectabile.

Se consideră că mutaţia somatică ar reprezenta una dintre cauzele care generează unele structuri maligne. O celulă somatică se poate transforma brusc într-o celulă malignă care se va înmulţi nelimitat, scăpînd de sub controlul normal al mitozei. Se pare că ereditatea joacă un oarecare rol în predispoziţia la cancer în sensul că la unele organisme există o instabilitate relativă a unor gene. Aceste gene se schimbă relativ uşor la persoanele predispuse la cancer.

Mutaţiile ce se produc la nivelul organismelor haploide se depistează uşor (ca şi cum ar fi dominante într-un organism diploid). Starea de hemizigoţie a organismelor haploide permite manifestarea fenotipică a tuturor mutaţiilor. Acest fapt prezintă o importanţă covîrşitoare deoarece multe descoperiri genetice s-au făcut pe astfel de organisme (haploide).

Mutaţia poate afecta şi plasmagenele din organitele celulare (mitocondrii, plastide etc.). Mutaţia acestor organite care poate fi spontană şi indusă, se transmite, obişnuit, pe linie maternă.

În general, mutaţiile sînt dăunătoare şi letale şi foarte puţine sînt utile organismului sau omului. Astfel, frecvenţa mutaţiilor dăunătoare este de circa 80%, iar a mutaţiilor letale de peste 19%. Majoritatea mutaţiilor letale sînt recesive, iar indivizii heterozigoţi nu pot fi recunoscuţi ca purtători ai acestor mutaţii.

Mutaţiile letale dominante din cauză că elimină organismul în care apar, nu pot fi studiate. Pot fi studiate mutaţiile dominante care manifestă letalitate doar în stare homozigotă, dar nu sînt letale într-o singură doză (în stare heterozigotă). Mutaţiile letale recesive pot fi studiate, deoarece ele se transmit în stare heterozigotă de la o generaţie la alta. Cînd o genă letală recesivă este situată în cromozomii sexului, aceasta se păstrează numai la sexul homogametic (XX sau ZZ) transmiţîndu-se de la o generaţie la alta şi se elimină la sexul heterogametic (XY sau ZW).

Mutaţiile utile (într-o proporţie mult sub 1%) reprezintă una din principalele cauze ale evoluţiei. Ele au schimbat lumea vie generînd marea variabilitate genetică asupra căreia a acţionat selecţia naturală, care a reţinut numai organismele mai bine adaptate în lupta pentru existenţă.

Consecinţele mutaţiilor sînt extrem de variate. Astfel, amplitudinea efectelor mutaţiilor genice cuprinde efecte letale, care antrenează moartea purtătorilor într-un moment oarecare al vieţii, efecte neutrale fără nici o importanţă asupra organismului şi pînă la efecte utile biologic sau utile pentru om.

MUTAŢII NATURALE

Mutaţiile care apar spontan fără intervenţia omului, se numesc *mutaţii naturale* sau *spontane*.

Mutaţia genică a fost detectată prima dată la cîteva specii de Drosophila, apoi la plante, animale şi om.

În ultima vreme au fost detectate numeroase mutaţii la microorganisme.

Toate speciile pot fi afectate de mutaţii spontane. *Th.H. Morgan* şi colab. (1925) au descris mai mult de 500 de mutante la *Drosophila*.

La animale, de exemplu la ovine, rasa merinos cu firul mătăsos, a fost creată prin selecţia unei mutante apărută spontan într-o turmă de oi merinos. Vulpea argintie platinată, a fost de asemenea obţinută pornind de la o mutantă platinată apărută într-o crescătorie. La bovine, ovine şi caprine s-au semnalat o serie de mutante care au dat naştere la rase fără coarne. La păsări, mutaţia afectează cu mare frecvenţă genele care determină culoarea şi forma penajului. Astfel, penajul poate fi de culoare albă, roşie, pestriţă, albastră etc., iar penele pot fi normale, frize, gofrate etc. sau cu gîtul golaş etc. La microorganisme, se cunosc o serie de mutante care au o rezistenţă foarte mare faţă de temperaturi ridicate, de antibiotice, care au pierdut capacitatea de a sintetiza unii metaboliţi etc.

Frecvenţa mutaţiilor spontane este variabilă, în funcţie de genele afectate şi de factorii mutageni din mediu. Astfel, la *Drosophila melanogaster*, în condiţii obişnuite, frecvenţa mutaţiilor letale recesive la loci situaţi în cromozomul X este de 0,1%, în timp ce frecvenţa mutaţiilor la loci situaţi în cromozomii 2 şi 3 este de 0,5%, iar la cei 2—3 loci din cromozomul 4, frecvenţa mutaţiilor este foarte mică.

Exprimarea procentuală a numărului de mutaţii spontane pe generaţie se face prin *rata mutaţiei*. Rata mutaţiei spontane poate varia între specii, în interiorul speciei de la o populaţie la alta şi între gene. Se consideră că în unele cazuri diferenţele sînt controlate genetic.

La *Drosophila* rata medie a mutaţiilor la un anumit locus într-o generaţie este de 1/100 000 gameţi. Rata mutaţiei la plante şi animalele vertebrate este asemănătoare cu cea de la *Drosophila*. La om, rata mutaţiei la o genă este egală cu cea de la Drosophila (o mutaţie la un locus la 100 000 gameţi), în timp ce rata medie a mu-

ţiei spontane la om, datorită numărului mai mare de gene (peste 10 000), este mai mare decît la Drosophila. La microorganisme rata mutaţiei este mai mică (de exemplu, la bacterii este de 1/10 000 000 celule la o generaţie celulară.)

Modalităţile de calculare a ratei mutaţiei diferă de la o specie la altă specie, în timp ce calcularea ratei tuturor mutaţiilor pentru un organism se face în acelaşi fel, adică se însumează rata mutaţiilor fiecărei gene în parte. În rata generală a mutaţiilor unei specii sînt incluse atît mutantele folositoare speciei respective cît şi mutantele dăunătoare şi letale.

În general, frecvenţa mutaţiilor naturale este relativ mică. Aceasta creşte însă odată cu creşterea numărului cromozomilor şi a genelor. Aşa cum s-a menţionat numeroase mutaţii recesive, utile şi letale, datorită heterozigoţiei nu se manifestă la organismele alogame decît în urma consangvinizării.

Rata mutaţiei este influenţată de o serie de factori externi, cu rol mutagen, cum sînt: radiaţiile cosmice, elementele radioactive naturale, temperatura, unele componente chimice ale mediului de viaţă, sexul etc.

MUTAŢII ARTIFICIALE

Studiile asupra mutaţiilor induse au scos la iveală faptul că între mutaţiile artificiale şi cele naturale nu sînt diferenţe, mutaţiile induse avînd la bază tot o schimbare într-o singură genă.

Factorii care induc mutaţii artificiale pot avea o origine fizică, chimică şi biologică.

Factorii mutageni fizici sînt radiaţiile şi şocurile de temperatură. Radiaţiile prezintă o deosebită importanţă deoarece ele determină inducerea de mutaţii cu o frecvenţă mare (de circa 150 de ori mai mare decît în natură).

După cum s-a precizat, faptul că radiaţiile produc mutaţii genice a fost demonstrat încă din 1927 de *H. J. Muller* prin experienţele sale efectuate cu raze X

la *Drosophila*. În 1928, *L. J. Stadler* a reușit să inducă mutații la porumb și orz tot cu ajutorul razelor X.

Practic, orice caracteristică morfologică, fiziologică sau biochimică, indiferent de specie, controlată de o genă poate fi modificată prin inducerea de mutații. De exemplu, la plante prin folosirea unor agenți mutageni și aplicarea selecției în cadrul descendenților au fost obținute forme noi ameliorate. În prezent, sînt bine cunoscute experiențele de inducere a mutațiilor efectuate în S.U.A., Japonia, Suedia, R.D.G., R.F.G. și alte țări, inclusiv România.

După modul lor de acțiune, radiațiile se împart în:
— radiații ionizante, care produc reacții radiochimice și sînt cele mai numeroase: raze Roentgen (X), raze gamma (γ), raze beta (β), protonii, razele alfa (α), neutronii etc. și radiații neionizante care dau reacții fotochimice: dintre acestea, cel mai des utilizate sînt radiațiile ultraviolete.

Între tipul de radiație și tipul de mutație nu există nici o legătură, cu alte cuvinte indiferent de felul și de modul cum acționează radiațiile, ele produc aceleași tipuri de mutații artificiale. Radiațiile produc schimbarea genelor prin ruperea legăturilor chimice. Radiațiile ionizante produc efecte biologice primare în țesuturi prin ionizări și efecte secundare prin agitație termică sau excitația moleculelor din țesuturi. Razele ultraviolete (radiații neionizante) nu ionizează țesuturile, ci produc doar excitația moleculelor.

Radiațiile produc schimbări genice direct proporționale cu creșterea cantității de energie transferată de sursă (intensitatea iradierii) asupra țesuturilor vii. Doza de radiații ionizante se măsoară în unități roentgen (r), atît pentru raze X și raze gamma, cît și pentru radiațiile alfa, beta și neutroni. Unitatea roentgen reprezintă o cantitate de radiație X sau gamma capabilă să producă într-un cm^3 de aer uscat $2{,}08 \times 10^9$ perechi de ioni în 1 cm^3 de aer la 0°C și la presiunea atmosferică de 760 mm Hg. Doza de iradiere cu raze ultraviolete se măsoară în $ergi/cm^2$.

Toleranța la radiații a unui organism sau radiosensitivitatea organismelor se notează cu LD_{50} (doza

letală =50), ceea ce reprezintă cantitatea de radiații în măsură să omoare 50% din indivizii expuși iradierii. Sensitivitatea la radiații este extrem de diferită și ea variază între limite foarte mari pentru diversele specii atît în lumea plantelor cît și a animalelor.

Iată doza letală (LD_{50}) la cîteva specii (în r): om 450, cîine 350, șoarece 530, broască 700, musculița de oțet 46 000, drojdia de bere 30 000, bacilul coli 25 000, brad 750, fasole 8 000, tomate 35 000, muștar 100 000. Doza de 2 500 000 r este letală pentru toate organismele vii.

În general, radiosensitivitatea este direct proporțională cu gradul de evoluție al organismelor.

Efectele iradierii se clasifică în „efecte biologice" care se manifestă la individul expus și „efecte genetice" care se transmit de la o generație la alta datorită mutațiilor genice care apar în celulele reproducătoare.

Radiațiile ionizante afectează celulele sub diferite forme. Astfel, ele inhibă diviziunea celulară și sinteza acizilor nucleici, rup cromozomii și cromatidele cauzînd rearanjări structurale, schimbă structura chimică a genei producînd mutații genice, induc anomalii în mitoză și meioză etc.

Sub acțiunea radiațiilor ionizante se pot observa și creșteri anormale ale unor țesuturi, inclusiv apariția unor tumori, iar capacitatea reproductivă poate fi redusă la zero.

La folosirea radiațiilor ultraviolete, eficiența inducerii de mutații este corelată cu lungimea de undă. O activitate mutagenică maximă au dat-o la diferite organisme, lungimile de undă cuprinse între 2 500 și 2 800 Å. Din cercetările efectuate privind curba de absorbție a radiațiilor de către ADN de la diferite organisme expuse, s-a constatat că maximum de absorbție a radiațiilor (de către ADN) corespunde lungimii de undă de 2 600 Å. De aici, concluzia că acidul dezoxiribonucleic (ADN) este sediul mutației. Se consideră că acizii nucleici la o iradiere cu 2 600 Å se descompun

prin alterarea structurii normale a bazelor purinice și pirimidinice. Are loc modificarea acizilor nucleici care constă în schimbarea secvenței nucleotizilor de-a lungul catenei liniare. Noua structură a acizilor nucleici este ereditară.

Probabilitatea ca o genă care a fost expusă la 1 unitate roentgen să muteze, se consideră că este de circa 10^{-8} (1 la 100 000 000).

Inducerea și rata mutației sînt influențate nu numai de tipul și doza de iradiere, ci și de alți factori. Dintre aceștia, mai mare importanță prezintă: genotipul iradiat, vîrsta, temperatura, starea de hidratare a materialului în momentul iradierii etc.

Frecvența mutantelor utile este în general foarte mică, fiind de 1 la 1 000 de mutante (și mai multe) induse.

Temperatura ca mutagen fizic administrată sub formă de șocuri alternante, ridicată și scăzută, determină o creștere a frecvenței mutațiilor la diverse organisme.

Mutageni chimici. Primele lucrări care au evidențiat acțiunea mutagenă a unor substanțe chimice au fost cele ale cercetătoarei engleze *Charlotte Auerbach* (1941), care a constatat o creștere a ratei mutațiilor la *Drosophila* tratată cu gaz muștar (iperită). Această descoperire a fost publicată în 1946. În 1947, americanul *J. M. Robson*, a publicat lucrări privind utilizarea diferitelor substanțe chimice în producerea de mutații.

Sub acțiunea agenților mutageni chimici cum sînt gazul muștar, fenolul, formaldehida, etil uretanul, acidul nitros, fenolul, brom uracilul și chiar cofeina și teobromina, care sînt adesea consumate de om, au fost induse ruperi cromozomale și mutații la plante superioare, ciuperci, bacterii și viruși.

Agenții mutageni chimici au fost grupați în cîteva categorii:

— agenți alkylanți, cum sînt gazul muștar, epoxidele și sulfonații;

— derivații purinei și primidinei (analogii bazelor purinice și pirimidinice);

— alte substanțe chimice mutagene, printre care acenaftenul, hidrazida maleică, formalina, acidul nitros, sărurile unor metale grele ș.a.

Agenții mutageni alkylanți prezintă un interes deosebit prin eficiența mutagenică foarte ridicată, comparativ cu razele X. Alkylanții produc mutații care nu apar în urma iradierii cu raze X. Deoarece unii dintre acești mutageni produc alterări nucleare care mimează radiațiile și inhibă mitoza se mai numesc și *radiomimetice* sau *antimitotice*.

Substanțele alkylante induc mutații, schimbînd prin reacții chimice diferitele baze din moleculele acizilor nucleici. De exemplu este posibil ca sub influența agenților mutageni să fie eliminate și înlocuite diferite baze purinice sau pirimidinice. La baza reacțiilor agenților alkylanți cu ADN-ul stau: alkylarea grupelor fosfat cu formarea de triesterfosfați, alkylarea bazelor purinice și pirimidinice, depurinizarea moleculei de ADN etc. În urma acestor reacții rezultă mutații caracteristice.

Derivații purinei și pirimidinei diferă de toți ceilalți agenți mutageni chimici, prin aceea că ei sînt mutageni la concentrații care nu sînt letale pentru celulă.

În general, purinele naturale, adenina, cofeina, 2-aminopurina pot înlocui adenina și guanina din molecula de ADN. Analogii pirimidinei, 5-bromuracilul și 5-bromodezoxiuridina, sînt utilizați pentru înlocuirea celorlalte două baze din ADN, timina și citozina. Mutațiile produse de analogii purinei și pirimidinei sînt ereditare. Încorporarea în molecula de ADN a uneia sau a mai multor baze analoge, arată că în asemenea situații mutația rezultă printr-un mecanism de copiere greșită.

Existența fiecăreia din cele 4 baze azotate normale (A, G, C, T) în stări alternative apărute prin rearanjări (schimbări tautomerice) în distribuirea electronilor și protonilor în moleculă poate determina *erori* în succesiunea normală a nucleotizilor în catena de ADN. Cînd o bază se găsește într-o stare tautomerică, ea nu se mai poate împerechea cu partenerul ei obișnuit (A cu T și G cu C), ci cu celălalt partener (de pildă A cu C

și G cu T). Acest fenomen determină apariția în procesul duplicării ADN a schimbării bazelor: AT în GC, iar GC în AT. Copierea greșită dă naștere în replicările următoare la o moleculă de ADN de tip original AT sau GC și la o moleculă mutantă GC sau AT.

Erorile în replicare sînt de două tipuri:

a) *tranziții*, care constau în înlocuirea unei purine de către altă purină sau a unei pirimidine de către altă pirimidină (tranziția prin tautomerie sau ionizare);

b) *transversii*, care constau în înlocuirea unei purine de către o pirimidină și a unei pirimidine de către o purină.

Așadar, mecanismele de bază care realizează modificarea informației genetice și deci apariția procesului mutațional, sînt: *erorile de includere* a unor nucleotizi în macromolecula de ADN și *erorile de replicare* a ADN.

În general, diversele substanțe chimice au efecte diferite. În ultima vreme se cercetează posibilitatea găsirii unor substanțe chimice cu o acțiune mai selectivă. Acestea ar putea servi pentru studiul naturii chimice a genelor individuale, iar pentru ameliorare ar constitui baza producerii unor mutații de tipul dorit.

MUTAȚIILE GENICE ȘI EFECTELE ASUPRA FENOTIPULUI

În proporție de aproximativ 99 procente mutațiile genice au efecte negative asupra fenotipului, acesta putînd manifesta anomalii structurale sau funcționale. Prin modificarea mediului intern majoritatea mutațiilor genice determină devieri de la starea normală a unor caracteristici. Asemenea devieri, de intensitate variabilă, reprezintă cauzele unor boli sau sindromuri de origine genetică (gr. *syn* — împreună; *dramein* — a merge; grup de simptome concomitente caracteristice).

Devieri anormale ale fenotipului determinate de mutații genice au fost studiate la numeroase grupe de organisme. Astfel, la om au fost relevate mai mult de 1 600 de boli cauzate de alterarea informației

genetice. Bolile sînt determinate de schimbarea unei gene care, la bolnav, se găsește sub forma unei mutații cu funcții și acțiuni diferite. În general, acest tip de boli se manifestă ca urmare a faptului că mutația genică determină producția altor enzime sau a altor produse metabolice în organism. Aceste boli afectează toate țesuturile și organele. Cele mai multe afectează scheletul generînd brachidactilia, polidactilia, malformații ale cutiei craniene, nanismul etc. Altele produc tulburări ale aparatului circulator, ale căilor urinare, rinichilor, sistemului nervos, sistemului muscular etc.

Tipul mutațiilor	Malformații și maladii ereditare	Frecvența la naștere (calculată la 1000 000 gameți)
Autozomale dominante	acondroplazie (nanism, scurtarea puternică a porțiunii superioare a membrelor superioare și inferioare)	28
	brahidactilie (scurtarea degetelor)	400
	surditate (anumite tipuri)	46
Autozomale recesive	albinism (absența pigmentului melanic din piele, păr, iris)	130
	microcefalie (craniu mic; cu creier mic și înapoiere mintală)	40
Heterozomale recesive	hemofilie (tulburări legate de coagularea sîngelui cu hemoragii numeroase)	100
	diabet insipid (datorită unui defect în producerea sau folosirea hormonului antidiuretic)	50

Fig. 68. Frecvența mutațiilor la diverși loci ce controlează la om unele boli grave (condiționate monogenic).

Malformațiile ereditare al eurechii interne, ale globului ocular sau ale căilor optice determină fenomenul de surditate și orbire la mai mult de jumătate dintre infirmi etc. (fig. 68).

Într-o serie de cazuri, cercetările au relevat, că unele boli nu sînt ereditare dar că ele apar datorită unei „pre-

dispoziţii genetice". Dintre bolile care ar putea avea ca substrat o „predispoziţie genetică" se numără: diabetul zaharat, obezitatea, guşa endemică, ulcerul gastroduodenal, tulburările psihice, epilepsia, artrita reumatismală, infarctul miocardic, hipertensiunea arterială ş.a. Cercetările întreprinse privind aceste boli, nu au reuşit să descifreze încă mecanismul determinant. O serie de cercetări au condus la presupunerea că aceste boli au la bază tot acţiunea unei gene recesive mutante care produce o enzimă modificată şi care induce o „eroare de metabolism", concretizată în alterarea unui organ sau în desfăşurarea unei funcţii. Este posibil ca declanşarea acţiunii greşite a genei mutante să fie favorizată de condiţii de mediu aberante cu efecte stressante.

Bolile metabolice ereditare sînt produse de diferite gene mutante. Genele mutante care controlează aceste boli, determină formarea unor enzime modificate, inactive sau cu activitate redusă care intervin pe anumite trepte ale diferitelor căi metabolice. Bolile cele mai cunoscute din metabolismul proteinelor sînt tulburările provocate de blocarea la diferite nivele a lanţului fenilalaninei. Aşa apar boli ca fenilketonuria, alcaptonuria, albinismul, cretinismul etc.

Numeroase sînt şi anomaliile care afectează metabolismul glucidelor. De exemplu, diabetul zaharat, intoleranţa la fructoză, cu hipoglicemie etc., apar în urma acţiunii unei gene mutante autozomale recesive. Metabolismul lipidic este şi el afectat într-un mod asemănător prin acţiunea unor gene recesive.

Mutaţia altor gene schimbă metabolismul mineral şi produce diferite boli cum sînt hemocromatoza, caracterizată prin mărirea cantităţii de fier în epiteliul intestinal, atransferinemia congenitală, caracterizată prin reducerea cantităţii de fier din plasmă şi creşterea sa în ficat, miocard, rinichi, pancreas şi ganglionii limfatici etc.

Relevarea cauzelor acestor anomalii la om a creat posibilităţi pentru elaborarea unor metode de tratament. Sinteza primei gene umane (1976) dar mai ales perfecţionarea chirurgiei la nivel microscopic a materialului

genetic uman deschide perspective de eliminare din organism a cauzelor determinante. În această ordine de idei merită menţionat că, în 1977, la Universitatea din San Francisco, s-a realizat cu succes transplantul de la o celulă de șoarece la o bacterie din intestinul uman (*Escherichia coli*) a genelor responsabile pentru sinteza insulinei. Bacteriile receptoare transmit ereditar noua caracteristică. Printr-un procedeu similar genele responsabile pentru sinteza insulinei prelevate de la un donor (exemplu, de la șoarece) ar putea fi grefate în cromozomii celulelor pancreatice ale suferinzilor de diabet. S-ar realiza astfel eliminarea tratamentului medicamentos al diabeticilor cu un tratament genetic.

INDICAŢII PRACTICE CU PRIVIRE LA INDUCEREA DE VARIAŢII GENETICE

CUM SE INDUCE POLIPLOIDIA LA PLANTE

Inducerea artificială a autopoliploidiei la plante s-a realizat în principal cu ajutorul colchicinei (alcaloid extras din *Colchicum autumnale*).

Tratamentele cu soluţii de colchicină în concentraţii între 0,05 și 1%, se fac asupra seminţelor negerminate, seminţelor germinate, plantulelor, mugurilor în diferite faze de creștere și chiar asupra plantelor mature. De asemenea, pot fi tratate florile sau inflorescenţele.

De exemplu, la secară și alte graminee, seminţele germinate se imersează într-o soluţie de colchicină de 0,2% timp de 2 ore sau de 0,1% timp de 3 ore. Plantele autotetraploide au în spic boabe mai puţine dar mai mari.

La sfeclă, se poate trata cu colchicină 0,3% glomerulele cu seminţe germinate (la care rădăcinile nu depășesc 1 cm lungime), timp de 3—5 ore, la temperatura de 27°C.

La trifoi, pe vîrful de creștere al plantulelor se pune cîte o picătură de soluţie de colchicină 0,2%, de 3 ori

pe zi la interval de 3 ore timp de 6 zile, sau, semințele de trifoi se pun mai întîi în apă timp de 24 de ore, apoi pe hîrtie de filtru îmbibată cu soluție de colchicină 0,1% timp de 48 ore sau 0,2% timp de 24 ore.

La cartof, se iau tuberculi, la care se îndepărtează mugurii, lăsîndu-se unul singur pe fiecare tubercul. După ce acesta începe să crească, se introduce cu treimea superioară într-o soluție de colchicină 0,6—0,8%. Se pune apoi totul într-un exicator legat de o pompă de vid și se începe scoaterea aerului din recipient. În acest fel soluția de colchicină pătrunde în mugure și acționează asupra celulelor în diviziune din vîrful de creștere. După tratament, tuberculii se plantează. Tulpinile care sînt recunoscute a fi poliploide se butășesc separat în scopul de a obține plante în întregime poliploide.

La pomi și arbuști fructiferi ca și la vița de vie, se imersează vîrful ramurilor (respectiv a coardelor) într-o soluție de colchicină 0,1—0,2% timp de 1—2 zile. Pentru aceasta se utilizează eprubete mai mari care se fixează în jurul pomilor cu ajutorul unor tutori. După tratament se spală partea tratată observîndu-se eventualele modificări morfo-fiziologice care indică prezența fenomenului de autopoliploidie.

Pentru obținerea amfidiploizilor se fac mai întîi hibridări sexuate îndepărtate după care semințele hibride (F_0) sau plănțuțele hibride (F_1) se tratează cu soluție de colchicină pentru dublarea numărului de cromozomi.

De exemplu, pentru amfidiploidizarea hibrizilor între diferite specii ale genului *Triticum*, a hibrizilor *Triticale* ș. a., semințele hibride se pun la germinat în nisip și după ce apar coleoptilele, acestea se introduc într-o soluție de colchicină 0,25% timp de 35 minute, sau rădăcinile se pun un timp limitat, în soluție de colchicină 0,05%. Apoi, materialul tratat se plantează.

La hibrizii F_1 interspecifici și intergenerici la plante dicotiledone, se aplică, în general, aceleași metode de tratament cu colchicină ca și la speciile genitoare.

CUM SE PUNE ÎN EVIDENȚĂ GRADUL DE POLIPLOIDIE LA PLANTE

Starea poliploidă se poate evidenția *direct* prin determinarea la microscop a numărului de cromozomi din celulele somatice sau celulele sexuale. Gradul de poliploidie se poate determina și *indirect* prin analiza unor caracteristici *morfologice*. Astfel, plantele poliploide sînt viguroase, au frunze și fructe mai mari, tulpini și rădăcini mai îngroșate. Microscopic la plantele poliploide, se observă un număr mai mic de stomate pe unitatea de suprafață foliară de pe fața inferioară a frunzei. Celulele stomatelor la formele tetraploide, sînt însă mai mari, avînd un număr mai mare de plastide comparativ cu formele diploide corespunzătoare. Tot astfel, grăunciorii de polen au dimensiuni mai mari la plantele poliploide.

Măsurarea dimensiunilor stomatelor. Există o corelație directă între gradul de poliploidie și lungimea stomatelor. Măsurarea stomatelor se face comparativ cu formele diploide de la frunze aflate în același stadiu de dezvoltare.

Se detașează epiderma inferioară a frunzelor și se montează într-o picătură de I în KI. Se impregnează conturul celulelor. Lungimea stomatelor se determină de-a lungul diametrului longitudinal al stomatei. Se fac măsurători la un număr mare de celule (din 5 sau mai multe cîmpuri microscopice). Se face o medie. Lungimea stomatei este dată în diviziuni de micrometru care, apoi sînt transformate în microni.

Stabilirea numărului plastidelor din celulele stomatelor. Deoarece există o corelație directă între numărul plastidelor și gradul de poliploidie, se execută numărarea acestora la plante poliploide și diploide de aceeași vîrstă.

Pentru aceasta pe o lamă microscopică se pune o picătură de soluție de nitrat de argint 1–2% în care se pune o porțiune de epidermă de pe fața inferioară a frunzei. Se ia o lamelă pe care se pune, de asemenea, o picătură de soluție de nitrat de argint care se aplică

peste porţiunea de epidermă. În această soluţie epiderma rămîne 3—4 minute şi apoi se începe numărarea plastidelor din celulele stomatelor. Se vor număra plastidele din ambele celule ale stomatelor.

Determinarea comparativă a diametrului grăunciorilor de polen la formele diploide şi poliploide relevă de asemenea fenomenul de multiplicare a genomilor. La poliploizi diametrul grăunciorului de polen este mai mare. Se recoltează polen din antere nedesfăcute dar mature. Se colorează cu carmin acetic, iar diametrul se măsoară cu ajutorul micrometrului ocular.

CUM SE OBȚIN PLANTE DIN POLEN

Pe un mediu de cultură solid, relativ simplu, se plantează (în condiţii aseptice) antere, recoltate într-un anumit stadiu de dezvoltare. La tutun, se recoltează muguri florali, la care mărimea caliciului este egală cu a corolei (în acest moment are loc prima diviziune mitotică în polen).

După aproximativ 2—3 săptămîni de cultură, la o lumină fluorescentă continuă, de 2 000—3 000 lucşi, şi la o temperatură de 24—25°C, staminele se brunifică şi se deschid la nivelul fantei de dehiscenţă, iar aproximativ după 8 săptămîni de cultură, din anterele deschise apar plăntuţe verzi, cu două frunzulițe cotiledonare.

Plăntuţele sînt transplantate apoi pe un mediu de cultură mai simplu, asemănător mediului iniţial fără zaharoză şi A.N.A., care favorizează înrădăcinarea şi evită formarea ţesuturilor nediferenţiate.

Apoi plantele sînt trecute în seră, în vase de vegetaţie care se ţin cîteva zile într-un mediu cu umiditate excesivă. După o perioadă de 2—3 săptămîni, plantele se trec în vase de vegetaţie mai mari unde continuă să se dezvolte.

CUM SE INDUC ȘI SE IDENTIFICĂ MUTAȚIILE LA PLANTE

Se tratează semințele negerminate, uscate sau umede, germinate sau chiar plantule, cu agenți mutageni fizici sau chimici. De exemplu, la orz, grîu ș. a., se utilizează raze X, într-o doză de 20 000–25 000 r sau etilmetansulfonat între 1–3% (EMS), un timp variat. La unele plante dezvoltate din semințe tratate pot apărea schimbări ce afectează talia, perioada de vegetație, forma inflorescenței, rezistența la boli și cădere, fertilitatea și productivitatea, calitatea bobului etc. Prin selecție din acest material se pot obține linii cu caracteristici noi față de soiul inițial.

La mazăre, fasole, soia ș.a. semințe îmbibate prealabil în apă sînt iradiate timp de 24 de ore, cu raze X, în doză de 15 000 r. În X_2 (F_2) pot fi selecționate mutante caracterizate prin formarea unui număr mai mare de ramificații, păstăi, boabe etc.

Pentru cartof, se poate folosi atît iradierea cu raze X, cît și P^{32}. Tuberculii se secționează longitudinal în două părți egale, o jumătate este iradiată cu 5 000–10 000 r, iar cealaltă servește ca martor. De asemenea, pot fi iradiate cu raze X în doze de 14 000 și 20 000 r semințe negerminate. Din descendența materialului iradiat pot fi selecționate mutante caracterizate prin productivitate superioară, rezistență la boli etc.

Identificarea mutațiilor se face pe baza studiului indivizilor mutanți comparativ cu indivizii martor. Astfel, la plantele mutante se pot releva schimbări în fenotipul întregii plante, în forma, mărimea și culoarea frunzelor și florilor etc.

La unele mutante, prin metode de analiză adecvate, pot fi puse în evidență importante schimbări biochimice și fiziologice (în privința conținutului în zahăr, proteine, aminoacizi, pigmenți clorifilieni etc.).

Mutantele recesive se manifestă începînd cu generația a doua (X_2 sau M_2) cînd descendența începe să segrege. Pentru a asigura manifestarea segregării, plantele tratate se vor autopoleniza sau consangviniza. În generația M_2 manifestarea alelei mutante recesive

față de alela normală este în raport de 1 fenotip mutant la 3 fenotipuri normale.

În general, pentru a avea siguranța manifestării în M_2 a alelelor mutante recesive, în M_1 este necesară înmulțirea unui mare număr de descendenți ce se reproduc prin autofecundare. Semințele provenite de la fiecare din acești indivizi M_1 se însămînțează separat pentru a obține generația a doua (M_2).

CUM SE INDUC ȘI SE IDENTIFICĂ MUTAȚIILE LA ANIMALE

La *Drosophila melanogaster* se utilizează ca agent mutagen efedrina 0,1 g, 0,5 g, 1 g la 100 cm^3 apă în mediul de cultură sau raze X în doze de 1 000 r, 2 000 r și 4 000 r timp de o oră. La descendenți se constată schimbări în desfășurarea ciclului vital și inducerea a numeroase aberații cromozomale.

Și la *Drosophila* detectarea mutantelor recesive este posibilă începînd din M_2. La această specie s-a dat atenție deosebită detectării unor mutante recesive dependente de loci situați în cromozomul X. Se știe că unicul cromozom X al masculului provine de la mamă, în timp ce fiicele primesc un cromozom X de la mamă, și altul de la tată. Datorită acestui mecanism de transmitere, în cazul apariției unei mutații recesive în cromozomul X al genitorului patern, acesta nu va căpăta o exprimare fenotipică în generația F_1 de sex femel, deoarece funcția afectată va fi compensată de gena normală din celălalt cromozom X primit de la mamă. Descendența filială femelă va fi însă „purtătoare" a unei mutante care însă nu se manifestă fenotipic. Deoarece cromozomii X ai acestor femele sînt transmiși în F_2, în mod egal fiilor și fiicelor apare posibilitatea identificării mutantei respective la jumătate din masculii M_2 care posedă cromozomul X provenit de la bunic și care este primitor al mutației recesive. Acest fapt explică de ce numărul cel mai mare de mutații legate de cromozomul X sînt identificate și se manifestă la masculi (inclusiv la bărbat).

CREAREA UNOR FORME NOI DE ORGANISME PRIN SCHIMBAREA CONTROLATĂ A EREDITĂȚII

INGINERIA GENETICĂ

Într-o primă etapă, în activitatea de creare a unor genotipuri noi, au fost întrebuinţate mai ales metode cum sînt: selecţia în populaţii, consangvinizarea (la plantele alogame) şi hibridarea. Metoda hibridării controlate a permis obţinerea unor succese notabile în cazurile în care genitorii utilizaţi aparţineau aceleiaşi specii. Hibridările interspecifice şi intergenerice datorită barierelor reprezentate de diferenţele în morfologia gameţilor, în structura cromozomilor etc., deşi promiţătoare, s-au soldat pînă în prezent cu rezultate destul de puţine comparativ cu eforturile depuse.

O etapă superioară în reconstruirea plasmei germinative a început odată cu descoperirea faptului că materialul ereditar, reprezentat de gene, cromozomi şi seturi de cromozomi poate să fie schimbat prin utilizarea unor factori fizici şi chimici cu efecte mutagene (pentru a induce mutaţii genice), dislocante (pentru a induce schimbări în structura cromozomilor) şi ploidizante (pentru a induce schimbări în numărul cromozomilor).

În ultimii ani preocupările geneticienilor de a descoperi şi perfecţiona noi metodologii de acţionare din ce în ce mai eficient asupra plasmei germinative s-au concretizat pe de o parte în crearea unor noi genotipuri valoroase, iar pe de altă parte printr-o serie de descoperiri despre care se poate presupune nu numai

că vor egala într-un timp scurt marile realizări obținute pînă în prezent în activitatea de creare a unor forme noi, ci va determina o revoluționare a însăși concepției privind activitatea de creare a noi genotipuri. Unele dintre aceste descoperiri permit să se intervină tot mai eficient și controlat la crearea unor genotipuri prin aplicarea așa-numitei *ingineri genetice*.

Ingineria genetică sau manipularea genetică este considerată una dintre cele mai importante descoperiri ale secolului XX. Ea creează cercetării orizonturi nebănuite, care va influența profund cultura plantelor și creșterea animalelor, precum și medicina permițînd atît descifrarea la nivel celular a unor boli mai puțin cunoscute (de exemplu, cancerul), cît și tratamentul genetic al altora.

Dintre aceste descoperiri vom insista asupra *transferului unor gene prin transformare, cu ajutorul fagilor temperați, a hibridării somatice, a translocației* etc.

Descoperirea structurii moleculare a genei, a funcțiilor genelor (autocatalitică și heterocatalitică), a numărului de nucleotizi din unele gene și a codului genetic, izolarea genelor (de *J. Beckwith* și col., 1969) și crearea unor gene artificiale (*G. Khorana* și col., 1970; *A. Efstradiatis*, 1975, ș.a.), precum și cunoștințele despre transformare, transducție și despre hibridarea la nivel celular, sînt principalele premise care au asigurat nașterea *ingineriei genetice*.

În sens strict, noțiunea de inginerie genetică indică metodele și tehnicile utilizate în transferul controlat al unor gene de la un organism la altul.

La baza aplicării ingineriei genetice stă utilizarea enzimelor *endonucleaza*, descoperite la *Escherichia coli*, de genetistul *H. G. Khorana*. Fiecare dintre aceste enzime au proprietatea de a recunoaște (de a se lega) de o secvență foarte specifică de nucleotizi la nivelul căreia rupe legăturile interne fosfodiesterice producînd astfel „tăierea" sau producerea de „breșe" în poziții precise în molecula bicatenară helicoidală a ADN. Se creează astfel două capete libere „adezive" la care se pot adăuga nucleotizi noi sau segmente diferite de ADN. (Un mecanism molecular asemănător ar sta la

baza crossing overului între două molecule homologe bicatenare de ADN).

Dar breşele pot fi „plombate" (în prezenţa ADN-polimerazei) cu un fragment de ADN prelevat dintr-o celulă diferită genetic. Astfel, în molecula de ADN bicatenară inelară de la *E. coli* pot fi introduse segmente de ADN, reprezentînd o genă, sau cîteva gene de la orice organism (şoarece, om, bacterii, virus, de exemplu: bacteriofagul lambda etc.). După un mecanism similar pot fi incluse segmente de ADN străin în moleculele de ADN a oricărui organism.

În prezent se caută să se perfecţioneze sistemul de prelevare (de separare din molecula de ADN) şi de transfer a segmentelor de ADN de la organismul donor la organismul vehiculator şi apoi la organismul receptor. În general, ca vehiculatori se utilizează organisme simple şi cu un grup linkage cunoscut cum sînt *E. coli* din intestinul uman, şi virusul temperat lambda ce parazitează *E. coli*.

În sens mai larg ingineria genetică indică metodele şi tehnicile utilizate în manipularea de material genetic preexistent sau creat artificial în vederea sintezei unor genotipuri noi.

TRANSFERUL GENELOR PRIN TRANSFORMARE

Anterior s-a arătat că *transformarea* descoperită de *Griffith* (1928) şi apoi explicată şi indusă de *Avery* şi col. (1944), pe baza tehnicii clasice rămîne un fenomen caracteristic doar bacteriilor. Prin perfecţionarea tehnicilor moderne această metodă de transfer genetic poate căpăta noi valenţe. Oricum, această descoperire a contribuit la stabilirea rolului ADN în ereditate şi poate fi considerată prima reuşită a ingineriei genetice. S-a precizat, de asemenea, ce este *transducţia* şi cum contribuie acest fenomen la recombinarea bacteriilor. Faptul că fagii temperaţi nu sînt proprii numai bacteriilor, ci sînt prezenţi şi în cromozomii altor

celule, inclusiv în cromozomii celulelor umane, a generat ideea că fagii temperați pot fi utilizați pentru vehicularea unor gene sau plasmagene din stoc (naturale sau artificiale) la un organism oarecare recipient.

Iată o variantă perfecționată de utilizare a transformării. La bacterii, în citoplasmă există factori ereditari extracromozomali denumiți *plasmagene* sau *plasmide* (ultima noțiune a fost utilizată de *J. Lederberg*, 1952, pentru a indica determinanții ereditari extracromozomali care se găsesc numai în stare autonomă și se transmit independent de cromozomi. Spre deosebire de plasmide, starea episomilor este alternantă: autonomă sau integrată în cromozomul circular bacterian). S-a stabilit că plasmidele, alcătuite dintr-o moleculă mică de ADN dispusă circular, pot poseda informația genetică pentru susceptibilitate (*S*) — rezistență (*R*) la antibiotice. În vederea transferului rezistenței, de exemplu, la tetraciclină, dintr-o sușă de bacterii rezistente la acest antibiotic, se extrage ADN-ul din plasmide (inițial se extrage întreg ADN-ul celular, apoi în urma centrifugării fracționate se reține numai ADN din plasmide, care are o greutate moleculară mai mică comparativ cu ADN cromozomal). Apoi, celule ale unei sușe de bacterii nerezistente sînt plasate în mediul cu ADN din plasmidele cu rezistență la tetraciclină. Anterior, pentru a asigura penetrarea peretelui celular și a membranei plasmatice de moleculele mici de ADN plasmidic *R*, bacteriile recipiente sînt tratate cu clorură de calciu. În celulele recipiente moleculele de ADN plasmidic *R* se replică, formînd plasmide normale și conferind rezistență la tetraciclină.

În transferul de plasmide un succes deosebit a fost obținut de *A. Chang* și *S. Cohen* (1973), cercetători la Universitatea Stanford din S.U.A. Aceștia au extras de la bacteria *Escherichia coli* plasmide cu factorul genetic de rezistență la penicilină, iar de la stafilococ (bacterie din genul *Staphylococcus*) plasmide cu factorul genetic de rezistență la tetraciclină. Amestecul cu cele două tipuri de plasmide, a fost tratat cu o enzimă-endonucleaza, în vederea ruperii macromoleculelor de

ADN și apoi cu altă enzimă-ligaza, în vederea sudării segmentelor macromoleculelor de ADN. În urma acestor tratamente și a transferului acestor plasmide în celule bacteriene s-a obținut un genotip nou care manifestă rezistență atît la penicilină cît și la tetraciclină.

INDUCEREA SIMBIOZEI EREDITARE

Transferul de plasmide poate să aibă și o deosebită importanță practică. Astfel, după cum se știe, bacteriile fixatoare de azot din genul *Rhizobium*, trăiesc în simbioză cu plantele leguminoase (trifoi, lucernă, soia, fasole ș.a.) pe a căror rădăcini formează nodozități caracteristice. Bacteria ia de la plantă hidrați de carbon și cedează acesteia azot absorbit sau fixat din aer dar într-o formă asimilabilă pentru plantă. La suprafața de un hectar, cultura de leguminoase ridică conținutul solului în azot cu 50—300 kg, reducînd sensibil necesitatea administrării de îngrășăminte cu azot culturilor de leguminoase. Specii cum sînt porumbul, grîul, floarea-soarelui etc., nu formează nodozități și deci culturile cu aceste plante trebuie aprovizionate cu cantități mari de îngrășăminte cu azot.

În scopul reducerii cantităților de îngrășăminte cu azot folosite în cultura plantelor se pune problema de a *transforma* speciile cultivate nefixatoare de azot în specii fixatoare de azot. Pentru rezolvarea acestei importante probleme care ar permite dezvoltarea unei agriculturi fără administrarea îngrășămintelor chimice, s-a trecut la studiul bacteriilor din genul *Rhizobium*, a mecanismului genetic ca și a naturii factorilor genetici „NIF" (engl. *nitrogen fixation*) care controlează fixarea azotului în simbiozele bacterie-plantă.

Potrivit cunoștințelor actuale, capacitatea bacteriilor din genul Rhizobium de a fixa azotul atmosferic este controlată de factori genetici localizați în ADN-ul plasmidelor. Rezultă că pentru realizarea unor simbioze între bacterii și plante neleguminoase s-ar putea realiza „educarea" (sau transformarea) bacteriilor fixa-

toare de azot în sensul formării de nodozități pe rădăcinile grîului, porumbului etc. O altă cale ar fi chiar transferul genetic al plasmidelor în citoplasma plantelor neleguminoase. Aceasta ar fi posibilă prin fuzionarea unor protoplaști de Rhizobium cu protoplaștii grîului, porumbului, orezului etc., în vederea obținerii unor hibrizi celulari, și în final, a unor plante cu capacitate proprie de fixare a azotului.

TRANSFERUL GENELOR CU AJUTORUL FAGILOR

Utilizarea *transducției* de gene de către profagi care la desprindere din cromozomul-gazdă preiau material genetic (în general, o genă) pe care la următoarea infecție îl transferă într-o altă celulă, apare în prezent ca o metodă deosebit de promițătoare. Virușii temperați pe baza unui mecanism similar crossing overului, pot prelua gene pe care apoi le transferă în alte celule, inclusiv în celulele unei alte specii care în mod normal nu este o gazdă obișnuită. Astfel, *C. Merril* și colaboratorii (1971), au reușit prin utilizarea bacteriofagului temperat λ, profag în *E. coli*, să preia din cromozomul acestei bacterii gena *gal*$^+$ care metabolizează galactoza în glucoză și să o transfere prin infecție într-un anumit cromozom dintr-o cultură de celule umane prelevate de la un bolnav ereditar de galactosemie (boală determinată de o alelă mutantă care a pierdut capacitatea de a sintetiza enzima necesară transformării galactozei în glucoză). În urma acestui proces, în celulele umane s-a transdus de la bacterii alela normală care tot printr-un crossing over a substituit alela mutantă.

TRANSFERUL GENELOR PRIN FUZIUNE DE PROTOPLAȘTI

Orizonturi noi, nebănuite în urmă cu numai 5—6 ani, sînt deschise ingineriei genetice, de descoperirile privind izolarea, cultura și fuziunea protoplaștilor. Așa

cum s-a precizat, un protoplast reprezintă o unitate protoplasmatică uninucleată vie. La plante, un protoplast reprezintă o structură rezultată dintr-o celulă a cărei perete celular pecto-celulozic a fost digerat cu ajutorul unor enzime (pectinaza și celulaza). Pentru izolarea protoplaștilor se utilizează țesuturi diploide (2 *n*) meristematice sau mature (ex. parenchimul: — mezofilul frunzei), țesuturi haploide (*n*; microspori) etc. Protoplaștii fiind unități vii, au proprietatea ca pe anumite medii de cultură să prolifereze organismul întreg.

Deosebita importanță a acestei descoperiri este departe de a se limita la obținerea protoplaștilor și regenerarea din aceștia a unor plante întregi. Pentru genetică și crearea unor genotipuri noi se poate afirma că epocala importanță a acestei descoperiri derivă, pe de o parte, din faptul că prin utilizarea unui singur protoplast se poate obține o populație omogenă de protoplaști cu o structură genetică identică, iar pe de altă parte, că protoplaștii datorită absenței peretelui celular sînt înzestrați cu însușirea de a absorbi și include (prin fenomene analoge *pinocitozei* și *fagocitozei*) particule străine relativ grosiere (molecule de ADN sau ARN, viruși, bacterii și chiar nuclei întregi și cloroplaste izolate etc.) sau chiar de a fuziona spontan între ei.

Proprietatea protoplaștilor de a asigura transferul de material ereditar sau de a fuziona între ei, creează posibilitatea de a uni experimental două organisme superioare (două genotipuri sau doi genomi diferiți genetic), nu pe calea hibridării sexuate prin unirea a doi gameți, ci pe o cale complet deosebită, în afara sexualității, prin *hibridarea parasexuală, somatică* sau *celulară*.

Hibrizii parasexuali posedă în cariotipul lor un număr de cromozomi egal cu suma cromozomilor existenți în protoplaști. Ca urmare, cînd sînt utilizați protoplaști din țesuturi haploide — *n*, hibrizii somatici vor poseda doi genomi deci vor fi diploizi — 2 *n*, iar cînd protoplaștii provin din țesuturi diploide, hibrizii celulari vor fi dublu diploizi — $2n+2n=4n$. Acești hibrizi între celule somatice vor fixa materialul ereditar posedat de celulele fuzionate; ei recombină genele fără ca acestea, ulterior, să mai segrege (segre-

garea genelor se manifestă la reproducere sexuată). Pînă în prezent s-au obţinut unii hibrizi parasexuali între celule animale (între celule tumorale, între celule umane și de șoarece sau ţînţar, între celule de hamster și de șoarece etc.; vezi capitolul: „Hibridarea sexuată și hibridarea somatică"), dar aceștia manifestă mare instabilitate în privinţa numărului de cromozomi, care în procesele de regenerare segregă sau se pierd (obișnuit se pierd cromozomii aduși de una din celulele partenere). La plante, hibrizii parasexuali, au fost obţinuţi între protoplaștii unor linii sau specii de tutun, de soia și orz, de măzăriche și de mazăre etc. Perfecţionarea tehnicilor de obţinere a unor protoplaști individuali și a condiţiilor de mediu care să favorizeze iniţierea proliferării celulare, precum și descoperirea unor factori stabilizatori ai structurilor noilor cariotipuri, va ridica metoda hibridării parasexuale la un nivel de eficienţă pe care hibridarea sexuată nu-l va putea atinge niciodată. Pentru ameliorarea plantelor și a animalelor, utilizarea metodei hibridării parasexuale va reprezenta o cucerire care va depăși cu mult marile realizări obţinute pînă în prezent în acest domeniu (*T. Crăciun*, 1977).

Prin utilizarea unor protoplaști cu genotip diferit, ca urmare a înlăturării barierelor de netrecut reprezentate de incompatibilitatea gameţilor la hibridarea sexuată, se creează posibilitatea transferului unor gene, de la organisme deosebite. Mai mult, prin inducerea fuziunii unor protoplaști străini se pot obţine prin adiţie hibrizi parasexuali sau somatici, diploizi sau poliploizi, între specii, genuri, familii, ordine și chiar clase diferite.

TRANSFERUL GENELOR PRIN MICROCHIRURGIE LA NIVEL CROMOZOMAL

În orice populaţie, datorită reproducerii sexuate, are loc un intens și permanent proces de recombinare a genelor provenite de la aceeași specie sau uneori chiar de la specii și genuri diferite.

Prin hibridare îndepărtată, alături de inducerea amfiploidiei, se poate realiza recombinarea genetică prin *adiția unor cromozomi străini*. Se realizează astfel transferarea în genotipul unei specii receptoare (odată cu cromozomul străin), a unor gene pentru rezistență la boli și dăunători, la temperaturi extreme etc. Așa cum s-a precizat într-un alt capitol tocmai datorită acestui fapt metoda adiției de cromozomi străini a devenit o metodă de perspectivă în special pentru ameliorarea plantelor de cultură.

Transferul de gene utile se realizează și prin *substituția cromozomală*, care constă în înlocuirea unei perechi de cromozomi ai unei specii, cu o pereche de cromozomi de la un alt soi sau specie. Așa cum a fost precizat, substituția cromozomală a fost aplicată cu succes la grîu. La această specie s-a reușit atît substituția cromozomală intraspecifică cît și substituția cromozomală intergenerică.

Prin hibridarea interspecifică și intergenerică se creează condiții pentru manifestarea fenomenului *translocației însoțit de transferul de gene*. Aceasta constă în ruperea unui segment dintr-un cromozom de la o specie sălbatică, posesoare de gene favorabile și schimbarea reciprocă cu un segment corespunzător dintr-un cromozom nehomolog de la un soi sau linie care urmează să fie ameliorată. În acest schimb este important ca segmentul de la specia donatoare să posede numai gena dorită, nu și gene dăunătoare, care ar influența negativ producția și calitatea.

Pentru aplicarea metodei este necesară determinarea prealabilă a cromozomului și segmentului sau locusului, care posedă caracteristica dorită. Apoi se încrucișează forma căreia urmează să i se transfere gena, respectiv caracteristica dorită cu forma care posedă această însușire. Se folosește hibridarea îndepărtată, urmată de inducerea unor dislocații (prin iradiere sau alți factori fizici și chimici) și selecția descendenților valoroși. Segmentele cromozomale care aparțin aceluiași grup linkage se asociază în mod obișnuit între ele (în aproape 90% din cazuri). Uneori însă ele pot

cuprinde și segmente străine, în schimbul unor segmente cedate.

După cum s-a precizat, această metodă a dat rezultate bune la grîu și la alte specii cultivate, reușindu-se transferul unor gene, cu însușiri de rezistență la condiții de medii nefavorabile de la specii sălbatice.

În anumite condiții pot fi induse translocații multiple, în care pot fi implicați majoritatea sau toți cromozomii dintr-un cariotip. O astfel de situație a fost descoperită la specia vegetală *Oenothera lamarckiana*, care a și fost folosită ca model pentru elaborarea unei metode de ameliorare. Este vorba de *metoda Oenothera de obținere a liniilor consangvinizate la porumb.*

Metoda a fost propusă de către *C. R. Burnham* (1946). Complementul cromozomal la *Oenothera lamarckiana* ($2n=14$) din cauza translocațiilor multiple formează două inele, unul din 12, iar al doilea din 2 cromozomi. Acest fapt a sugerat că se poate sintetiza și la porumb o linie la care toți cromozomii din setul haploid ($n=10$) să fie legați împreună prin interschimburi cromozomale formînd un inel (în stare diploidă două inele). O asemenea linie cu translocații multiple se încrucișează apoi cu forma de porumb normală la care se urmărește obținerea de linii homozigote. În F_1, fiecare plantă va rezulta dintr-un zigot în care 10 cromozomi sînt incluși într-un inel, iar 10 cromozomi sînt liberi (cei de la forma normală). O asemenea plantă va produce două feluri de gameți: unii care posedă un inel cu 10 cromozomi, alții cu setul haploid de 10 cromozomi normali. Dacă planta F_1 se autopolenizează în F_2 se vor obține alături de plante cu interschimburi (cu cei 20 de cromozomi în două inele identice) și plante cu 20 cromozomi normali. Plantele cu cromozomi normali sînt linii consangvinizate, perfect homozigote (ca și haploizii dubli), datorită faptului că au rezultat în urma autodublării celor 10 cromozomi din planta hibridă F_1 (cu 10 cromozomi + 1 inel de 10). Homozigoția la toți locii, rezultă din unirea în fecundare pe planta F_1 a unor gameți care posedă combinații de gene identice datorită duplicării alelelor prin unirea unor gameți cu cromozomi normali, aceiași cromozomi

liberi care în stare haploidă au participat la încrucișarea cu linia ce posedă translocația multiplă și în care cromozomii se găseau incluși într-un inel.

Rezultă că o linie pură genetic (homozigotă) poate fi obținută în două generații dacă la specia la care dorim să producem asemenea linii homozigote (fie plante autogame, fie alogame) există linii cu translocații multiple datorită cărora toți cromozomii sînt legați într-un inel.

Tot în scopul producerii unor linii perfect homozigote se utilizează *metoda haploidiei* descrisă în detaliu într-un alt capitol.

O largă utilizare în lucrările de ameliorare o are *metoda backcross* pentru transferul unor gene sau plasmagene de la un genotip la altul. Metoda constă în încrucișarea repetată, succesivă a unei descendențe hibride intraspecifice sau interspecifice (obținută în urma încrucișării unui genitor donor cu un genitor receptor), de exemplu ($A^{receptor} \times B^{donor}$) cu genitorul receptor folosit ca părinte recurent (de exemplu $[(A^{receptor} \times B^{donor}) \times A^{receptor}] \times A_n^{receptor}$). La backcrossările succesive se folosesc descendențe care posedă gena sau plasmagena transferată de la donor dar care se aseamănă fenotipic pentru restul genelor și plasmagenelor cu părintele recurent (receptor). Se obține astfel o linie isogenică analogă părintelui recurent, dar care posedă o genă sau o plasmagenă de la donor.

Metoda backcross este folosită pentru transferul de la un donor la un recurent; de exemplu, a plasmagenei pentru sterilitatea polenului S^{msms}, după schema: (linia A^{Smsms} citoplasmic mascul sterilă $\times$ linia B^{Nmsms} cu citoplasmă normală fertilă) $\times$ B^{Nmsms}) $\times$ B^{Nmsms}). După o schemă similară poate fi transferată orice genă, de exemplu, a genei pentru restaurarea fertilității polenului — *Rf*, a genei pentru sterilitate genică — *ms*, a genei pentru rezistență la o boală — *R*, a genei pentru talie mică — *dw*, a genelor pentru proteine lizinice în endospermul de porumb — o_2 și fl_2, a genei pentru ochi albi la Drosophila — *w* ș.a.

Variabilitatea genetică generată de schimbări ale plasmei germinative creează baza pentru acţiunea selecţiei naturale şi selecţiei artificiale, cu alte cuvinte nu variabilitatea genetică a organismelor dirijează evoluţia ci selecţia este cea care determină cursul evoluţiei prin acţiunea pe care o exercită asupra organismelor, asigurînd atît stabilitate cît şi posibilitatea de adaptare a vieţuitoarelor la condiţiile mediului natural şi ale mediului creat prin intervenţia omului.

Evoluţia şi ameliorarea, procese extrem de complexe, avînd la bază variabilitatea genetică a organismelor, au contribuit hotărîtor la perfecţionarea vieţuitoarelor actuale.

*
* *

Descoperirile geneticii privind esenţa vieţii şi posibilităţile de control a proceselor vitale au apropiat foarte mult momentul în care minunatul fenomen al vieţii, cu natura sa complexă, va putea fi „demitizat" de cunoaşterea umană, prin sinteza sa în laborator.

Premisele pentru controlul proceselor vitale şi a sintezei vieţii au fost stabilite odată cu descoperirea fascinantului şi ultraperfecţionatului mecanism celular în care macromoleculele de ADN programează şi realizează biosinteza proteinelor. O parte din potenţialul uriaş al acestei epocale descoperiri a şi fost fructificat, pe de o parte, prin individualizarea şi izolarea genei şi mai ales prin sinteza în laborator a genei, iar pe de altă parte, prin sinteza „in vitro" a unor acizi nucleici şi a unor proteine. Acestea au creat un capitol nou al geneticii — ingineria genetică.

Efortul uman uriaş al cercetării are în principal obiectivul cunoaşterii naturii, a aprofundării neconţenite a gradului de cunoaştere a „adevărului absolut" şi a pune în slujba sa, a omului, rodul descoperirilor. Aşa cum reiese din lucrarea de faţă, descoperirile genetice au şi fost valorificate din plin de omenire care beneficiază de noi soiuri de plante şi rase de animale, de mijloace de prevenire a unor boli, de noi microorganisme utile etc.

Dar asemenea unor descoperiri din alte domenii și descoperirile din genetică pot avea unele efecte imprevizibile. În ultimul timp, unele realizări spectaculoase ale ingineriei genetice, pe lîngă răsunetul lor pozitiv, ridică în fața geneticștilor și chiar a multor oameni din diferite domenii de activitate, semne de întrebare. Tot mai frecvent este formulată întrebarea „oare în laborator, în mod involuntar sau voluntar, nu vor fi create organisme dăunătoare, periculoase"?

Despre riscurile ingineriei genetice a început să se vorbească după realizarea transferului unor segmente de acid dezoxiribonucleic-ADN prelevat dintr-o celulă într-o altă celulă.

Teoretic este posibil transferul oricărei gene cu funcții normale sau anormale într-un organism la orice alt organism, inclusiv la om. Din acest motiv ingineria genetică poate constitui un pericol potențial pentru omenire. Tocmai riscurile imense pe care le pot prezenta unele cercetări au determinat pe geneticști să hotărască respectarea cu strictețe a unei „linii de conduită" care să asigure securitatea cercetărilor și implicit securitatea omenirii. Numeroși geneticști reuniți în anul 1975 la conferințele internaționale de la Asilomar și La Jolla (California) au convenit ca experiențele de mare risc să fie executate în condiții de securitate, pe de o parte, în laboratoare etanșe, tip bunker, menținute sub presiune negativă (aerul pătrunde în laborator, dar nu poate ieși), cu un sistem de sită și de epurare a efluenților (aer și apă), de autoclavă și de sterilizare cu raze ultraviolete, iar pe de altă parte, folosirea unor organisme slăbite sau transformate de așa manieră încît să nu supraviețuiască în condiții normale în afara laboratorului.

Nici o experiență din numeroasele experiențe de inginerie genetică nu a produs efecte negative sau boli la cercetători sau animalele de experiență. În viitor, ca și pînă în prezent, este de presupus că, conștiința cercetătorilor, a geneticștilor, va ține sub un strict control propriu, experiențele și rezultatele care ar putea dăuna omenirii, promovînd ideea utilizării realizărilor în folosul omului, a biosferei, a Terrei.

În ultima vreme, datorită perfecţionării tehnicilor şi metodelor de inginerie genetică, acţiunea evoluţiei a fost preluată în mare parte de laborator.

Se poate afirma că rezultatele cercetărilor de genetică sînt extrem de promiţătoare. Ele vor contribui la descifrarea mecanismelor evoluţiei vieţuitoarelor, la elucidarea problemelor legate de apariţia, complicarea şi diversificarea substanţei ereditare, la explicarea multor fenomene biologice, care astăzi sînt încă în discuţie. Dar nu numai atît, prin inginerie genetică se vor crea specii noi, iar altele se vor ameliora. Se vor putea corecta multe defecte genetice la plante şi animale, iar unele din bolile umane vor putea fi prevenite cu ajutorul analizei genetice. Va fi posibilă, de asemenea, crearea de genotipuri noi cu însuşiri superioare şi cu o mare capacitate de adaptare la condiţiile diferite ale mediului de viaţă. Se poate considera că ceea ce evoluţia nu a reuşit să creeze — hibrizi între grupe de organisme extrem de îndepărtate, de exemplu între grîu şi sorg, între oaie şi vacă ş.a., sau chiar între plante şi animale, se poate realiza astăzi în laborator prin inginerie genetică. Metodele şi tehnicile întrebuinţate azi prefigurează metodele de perspectivă care vor permite să se modeleze programat plantele, animalele şi microorganismele necesare sporirii permanente a productivităţii şi producţiei vegetale şi animale.

Beneficiarii importantelor descoperiri ale geneticii vor fi atît ştiinţa cît şi diverse domenii de activitate: agricultură, zootehnie, medicină şi, în final, omul. Iată de ce în ultima vreme, cercetările de genetică s-au dezvoltat, s-au extins ocupînd în cercetarea ştiinţifică un loc prioritar. Ele vor aduce soluţii pentru rezolvarea unor probleme majore ale omenirii: lipsa de hrană, diferite maladii care zilnic produc numeroase victime, reducerea poluării mediului ambiant etc.

Cunoaşterea aprofundată şi complexă a mecanismelor eredităţii, în strînsă conexiune cu descoperirile celorlalte ştiinţe, va permite omului ca printr-o muncă asiduă dozată de înţelepciune să controleze şi să folosească în interesul propriu fenomenele genetice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

CEAPOIU, N., *Genetica și evoluția populațiilor biologice*. Editura Academiei Republicii Socialiste România, București, 1976;

CRĂCIUN, T., *Genetica*, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1970;

CRĂCIUN, T., *Haploidia în cercetările de genetică și în ameliorarea plantelor*, Probleme de genetică teoretică și aplicată, I.C.C.P.T. — Fundulea, vol. IV, b, 1972;

CRĂCIUN, T., *Perspectivele geneticii și progresul agriculturii*. Din vol. „Probleme ale agriculturii contemporane", Editura Ceres, București, 1977;

CRĂCIUN, T., CRĂCIUN, V., *Mic dicționar de biologie*, Editura Albatros, București, 1976;

DRACEA, I., *Genetica*, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1972;

DUBININ, N. P., *Genetica moleculară și acțiunea radiațiilor asupra eredității*, Editura Științifică, București, 1966;

DUBININ, N. P., *Mișcarea eternă*, Editura Politică, București, 1977;

GAMOW, G., *Unu, doi, trei . . . infinit*, Editura Tineretului, București, 1967;

GAVRILĂ, L., DĂBALĂ, I., *Genetica diviziunii celulare*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1975;

GIOSAN, N., SĂULESCU N. A., *Principii de genetică*, Editura Agrosilvică, București, 1972;

IFTIMOVICI, E., *Biografia celulei*, Editura Tineretului, București, 1969;

IONESCU-VARO, M., *Biologie celulară*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1976;

JACOB, F., *Logica viului*, Editura Enciclopedică Română, Bucureşti, 1972;

DIACONU, P., *De la factorii ereditari la codul genetic*, Editura Ceres, Bucureşti, 1974;

JACOB, F., MONOD, J., *Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins*, J. molecular Biol., 3,318, 1961;

MUREŞAN, T., CRĂCIUN, T., *Ameliorarea specială a plantelor*, Editura Ceres, Bucureşti, 1972;

KARUZINA, I. P., *Biologia*, Izdatelistvo „Mediţina", Moskva, 1967;

LEVINE, L., *Biology of the Gene*, Academic Press, New York and London, 1973.

MANOLIU, M., DRĂCEA, I., CRĂCIUN, T., PANFIL, C., *Genetica*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1965;

NICOLAE, I., NASTA, A., *Radiogenetica*, Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1975;

PANFIL, C., *Genetica*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1974;

RAICU, P., *Genetica*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1974;

RAICU, P., IONESCU-VARO, M., GANCEVICI, G., MOISESCU, G., *Celula, Structură, ultrastructură şi funcţii*, Editura Academiei Republicii Socialiste România, Bucureşti, 1972;

-RAICU, P., MIHĂILESCU, A., POPESCU, C., DUMA, D., CHIRILĂ, R., *Poliploidia şi aneuploidia la plante*, Editura Ceres, Bucureşti, 1975;

REINERT, J., Y. P. S. BAJAJ, *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977;

RIEGER, R., MICHAELIS, A., GREEN, M. M., *Glossary of Genetics and Cytogenetics*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1968;

STENT, G., *Molecular Genetics*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1971;

TIMIREAZEV, K. A., *Metoda istorică în biologie*, Editura de Stat, Bucureşti, 1946;

VAVILOV, N. J., *The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants*, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 1949, 1950;
WATSON, J. D., *Biologia moleculară a genei*, Editura Științifică București, 1974;
WINCHESTER A. M., *Heredity, An Introduction to Genetics*, Barnes and Noble, Inc., New York, 1963;
ZOLYNEAK, C. C., *Mozaic cromozomal XY/XYY, fără o reprezentare clinică tipică sindromului XYY*, An, Șt. Univ. Al. I. Cuza, Iași, Secț. II., Biologie, T. XX, 1974;
ZOLYNEAK, C. C., *Modificări ale cariotipului uman într-un caz de iradiere în scop terapeutic*, An. Șt. Univ. Al. I. Cuza, Iași, Secț. II, Biologie, T. XX, 1974.

CUPRINS



Volumul „Mecanismele eredității" relevă descoperirile privind fenomenul genetic la nivel molecular, celular și organismal și subliniază potențialul uriaș, dar încă puțin explorat și folosit, al geneticii de a deschide noi orizonturi de cunoaștere a substanței ereditare și de a elabora căile de utilizare ale acestora în folosul omului.